



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

IMPORTANCIA DEL DENGUE Y SU VECTOR *Aedes aegypti* EN MÉXICO

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A :
MINERVA MATA ROCHA

ASESOR: Q.F.I. ANDREA A. BECERRIL OSNAYA

CUAUTITLÁN, IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

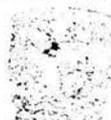
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 CUAUTITLAN



Departamento de
 Exámenes Profesionales

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicarle a usted que revisamos la TESIS:

Importancia del Dengue y su vector Aedes aegypti en México.

que presenta la pasante: Minerva Mata Rocha
 con número de cuenta: 09656518-8 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Abril de 2004.

PRESIDENTE	<u>QFI. Andrea Becerril Osnaya</u>	<u>Andrea Becerril Osnaya</u>
VOCAL	<u>QFB. Idalia Avila Miyazawa</u>	<u>Idalia Avila Miyazawa</u>
SECRETARIO	<u>QFB. Martha P. Zúñiga Cruz</u>	<u>Martha P. Zúñiga Cruz</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Dra. Susana E. Mendoza Elvira</u>	<u>Susana E. Mendoza Elvira</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFB. Ana Laura Vázquez Martínez</u>	<u>Ana Laura Vázquez Martínez</u>

AGRADECIMIENTOS

*A Dios, por estar siempre
conmigo, gracias*

*A mis padres Raúl y Enriqueta por ser
mi aliciente día con día.*

*A mis hermanos Rosa, Ricardo, Olga, Raúl
y Carmen, por que los quiero mucho*

*A mis sobrinos: Karla, Mariana,
Donovan, Jonathian, Guadalupe, por
que son la alegría de todos mis días.*

*A mis amigos Lilia, Jair, Alma, Beti,
Rafael, Maricela, Miriam, Elivet, Leti,
Edgar, por toda su ayuda y amistad.*

*A la profesora Andrea Becerril por
toda su ayuda, gracias*

*A mis asesores por ayudarme a revisar
mi tesis.*

*A toda las personas que he conocido y
que me han ayudado, aún si pedirselo,
muchas gracias*

INDICE

	Hoja
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	2
CAPITULO I. GENERALIDADES	3
I.1. USO DEL TERMINO DENGUE	3
I.2. CARACTERÍSTICAS CLINICAS DEL DENGUE	3
1.2.1 DENGUE CLÁSICO O FIEBRE DE DENGUE (FD)	4
1.2.2 FIEBRE HEMORRAGICA DEL DENGUE (FHD)	5
1.2.3 GRADOS DEL DENGUE HEMORRÁGICO.	6
1.2.4 SÍNDROME DE CHOQUE POR DENGUE (SCD).	7
I.3. TEORÍA SOBRE EL MECANISMO DE LA F. H. POR DENGUE.	7
I.4. FACTORES DE RIEGO PARA EL DESARROLLO DE FHD/SCD.	9
CAPITULO II. DISTRIBUCIÓN DEL DENGUE Y <i>Ae. Aegypti</i>	11
II.1. DISTRIBUCIÓN DEL VECTOR <i>Ae. aegypti</i> EN MÉXICO	12
II.2. DENGUE EN MÉXICO	13
II.3. DENGUE HEMORRÁGICO EN MÉXICO	16
CAPITULO III. VACUNAS	18
CAPITULO IV. VIRUS DE DENGUE	20
IV.1. GÉNERO FLAVIVIRUS	20
IV.2. ESTRUCTURA DEL VIRUS DE DENGUE	23
IV.2.1. GENOMA	23
IV.2.2. PROTEÍNAS ESTRUCTURALES Y NO ESTRUCTURALES	25
IV.2.3. PROTEOLISIS DE LA PROTEÍNA VIRAL DE DENGUE.	28
IV.3. CICLO DE REPLICACIÓN DE LOS FLAVIVIRUS	29
CAPITULO V. MOSQUITO VECTOR <i>Aedes aegypti</i>	31
V.1. <i>Aedes aegypti</i>	31
V.2. CICLO DE VIDA	33
V.3. CICLO DE TRASMISIÓN DEL VIRUS DE DENGUE	34
V.3.1. PASOS DEL CICLO DE TRASMISIÓN DEL DENGUE	36
V.4. COMPETENCIA VECTORIAL	37

CAPITULO VI. DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO	39
VI.1. TOMA DE MUESTRA	39
VI.2. DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO	40
VI.2.1. RT-PCR	41
VI.2.2. TRASCRIPTIÓN REVERSA (RT)	41
VI.2.3. PROCEDIMIENTO PCR	42
VI.3. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO	46
VI.3.1. ELISA	46
VI.3.2. INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN.	48
CAPITULO VIII. EVOLUCIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA DE LOS SEROTIPOS DEL VIRUS DENGUE	50
CAPITULO VIII. VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA	56
VIII.1. VIGILANCIA CLÍNICA.	57
VIII.2. VIGILANCIA VIROLÓGICA.	58
VIII.3. VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA.	59
VIII.3.1. CRIADEROS.	60
VIII.3.2. INDICES AÉDICOS.	63
CAPITULO IX. CONTROL DEL VECTOR	65
IX.1. CONTROL DE POBLACIONES LARVIARIAS	66
IX.2. CONTROL DEL MOSQUITO ADULTO.	68
IX.3. PARTICIPACIÓN COMUNITARIA	69
X. CONCLUSIONES	72
XI. GLOSARIO	74
XII. APÉNDICE	76
XII. BIBLIOGRAFÍA	81

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLA

	Hoja
Figura 1. Grados del Dengue Hemorrágico	5
Figura 2. Factores de riesgo para dengue hemorrágico y SCD	8
Figura 3. Distribución del dengue y FDH	10
Figura 4. Distribución de <i>Aedes aegypti</i> en México	11
Figura 5. Gráfica de casos de Dengue clásico en México	12
Figura 6. Dengue y Dengue Hemorrágico y serotipos identificados en México	13
Figura 7. Casos por entidad federativa de Dengue Clásico	14
Figura 8. Entidades de México con Dengue Hemorrágico	15
Figura 9. Casos por entidad federativa de Dengue Hemorrágico	16
Figura 10. Árbol filogenético del género flavivirus	21
Figura 11. Partículas virales de dengue	22
Figura 12. Estructura del genoma RNA de flavivirus	23
Figura 13. Representación de la dimerización de la proteína E	24
Figura 14. Cambio conformacional de la proteína E	25
Figura 15. Proteína M asociada a la proteína E	25
Figura 16. Estructura intracelular y extracelular de viriones	26
Figura 17. Proceso proteolítico de la poliproteína de flavivirus	27
Figura 18. Ciclo de replicación de flavivirus	29
Figura 19. Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	30
Figura 20. Ciclo de vida del mosquito <i>Aedes aegypti</i>	32
Figura 21. <i>Aedes aegypti</i> alimentándose	33
Figura 22. Ciclo de transmisión del virus del Dengue	34
Figura 23. Pasos del ciclo de transmisión	35
Figura 24. Barreras de defensa del mosquito vector	36
Figura 25. Transcripción reversa de RNA viral	40
Figura 26. Reacción en Cadena de la Polimerasa	42
Figura 27. RT-PCR para la detección y tipificación de virus dengue	44
Figura 28. ELISA de captura de IgM	46
Figura 29. Reinfestación del mosquito vector <i>Aedes aegypti</i> .	49
Figura 30. Filograma del virus dengue serotipo 3	50
Figura 31. Filograma del virus dengue serotipo 1	52
Figura 32. Árbol filogenético del serotipo 2 del virus de dengue	54
Figura 33. Criaderos domésticos	60
Figura 34. Criaderos controlables y desechables	60
Tabla 1. Vacunas contra flavivirus	17
Tabla 2. Virus que comprenden el género flavivirus	19
Tabla 3. Clasificación sistemática de <i>Aedes aegypti</i> .	32
Tabla 4. Interpretación de los títulos obtenidos por IH para dengue	41
Tabla 5. Niveles de riesgo de epidemias de Dengue	73
Tabla 6. Líneas de acción recomendadas por la SS	80

LISTA DE ABREVIATURAS

5' cap	
Ac.	Anticuerpo
Ae.	Aedes
BEM	Barrera de Escape del intestino medio
BHK 21	Células de riñones de hámster sirios recién nacidos
BIM	Barrera de Infección en el Intestino medio
BT	Barrera de Transmisión
C	Nucleocapside
cDNA	DNA complementario
DEN	Dengue
DEN- 1	Dengue serotipo 1
DEN- 2	Dengue serotipo 2
DEN- 3	Dengue serotipo 3
DEN- 4	Dengue serotipo 4
DNA	Ácido desoxirribinucleico
E	Proteína de Envoltura
SA	Ensayos inmunoenzimáticos
Fc	Fracción cristalizable del anticuerpo
FC	Fijación del Complemento
FHD	Fiebre Hemorrágica del Dengue
IFI	Inmunofluorescencia indirecta
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IH	Inhibición de la hemaglutinación
KD	Kilodantones
M	Proteína de membrana
MHC	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
MAL	Marco abierto de Lectura
N terminal	Amino terminal
NS	Proteínas no estructurales
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PrM	Proteína precursora de Membrana
RE	Retículo Endoplásmico
RNA	Ácido ribonucleico
RNT	Región no traducible
RT	Trascricpción reversa de RNA
SCD	Síndrome de Choque por Dengue
TBE	Virus de la Encefalitis
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
Tx	Toxorhynchites
ULV	Volumen Ultrabajo
YF	Fiebre Amarilla

INTRODUCCIÓN

El dengue es una enfermedad causada por el virus de dengue y es transmitido al ser humano por el mosquito *Aedes aegypti* infectado con el virus. Aunque la fiebre de dengue clásico (DEN), es el padecimiento más común y ha sido reportada por muchos siglos, la fiebre hemorrágica del dengue (FHD) parece ser un fenómeno más reciente y de gran importancia. Las epidemias de DFH han llegado a ser más frecuentes desde 1950 en el sureste de Asia y desde 1980 en América Central. Esto coincide con el cambio en el patrón de infección, donde el dengue actualmente causa mas enfermedad y muerte que otras enfermedades arbovirales (Gubler, 1998). En los últimos 60 años la incidencia, la distribución, y la severidad clínica del dengue ha aumentado dramáticamente. El crecimiento de la población en los trópicos proporciona muchos hospederos susceptibles al virus. La urbanización descontrolada produce gran cantidad de contenedores de agua y desechos no biodegradables donde se acumula el agua y que pueden llegar a ser el hábitat de las larvas del mosquito (Gibbons, et al, 2002).

Muchos programas de prevención y control han sido desarrollados para controlar enfermedades transmitidas por artrópodos, en América el control de la Fiebre Amarilla y dengue se logró a través de la eliminación del mosquito *Ae. aegypti* en 1960, sin embargo los programas fueron descontinuados y como resultado se presento el resurgimiento de la enfermedad. En la actualidad pocos programas de control son efectivos contra el mosquito, y la experiencia vivida sugiere se deben de implementar, desarrollar y mantener infatigablemente programas para la prevención de la enfermedad, y no solamente responder a las emergentes epidemias que causa el virus de dengue.

Es importante señalar que muchos cambios demográficos y sociales han ocurrido en los últimos años y la dinámica de la transmisión y ecología de muchas de las enfermedades tropicales que resurgieron ha cambiado. Para desarrollar programas que efectivamente prevengan y controlen al patógeno, necesitamos estudiarlo, lo que significa comprender la biología y el comportamiento del hospedero reservorio, el vector, el patógeno y las interacciones que ocurren entre ellos (Gubler, 2001). El dengue en México no es la excepción, su comportamiento actualmente es de alto riesgo, pues el crecimiento del vector y su amplia distribución en muchos estados del país, la presencia de poblaciones susceptibles y la actual circulación de los cuatro serotipos del virus, pone al país en la posibilidad del aumento de casos graves de dengue. Una epidemia de dengue Hemorrágico en México, traería consigo un gran impacto tanto social como económico. La prevención de una epidemia de dengue y sus formas severas (dengue hemorrágico y síndrome de choque de dengue), evitará que se tenga una urgencia epidemiológica en los servicios médicos y estos sean insuficientes, trayendo como consecuencia un aumento en la mortalidad, lo que bien podría evitarse si se toman todas las precauciones necesarias, tanto por las instituciones obligadas como por la comunidad.

OBJETIVOS

- ⌘ Comprender la importancia del dengue y su vector *Aedes aegypti* en México.
- ⌘ Describir los métodos empleados en el diagnóstico de la enfermedad.
- ⌘ Conocer los métodos de vigilancia y control aplicados en México para la prevención del Dengue.
- ⌘ Establecer la importancia de la comunidad en cuanto a su participación en el control del mosquito vector y por lo tanto de la enfermedad.

CAPITULO I. GENERALIDADES

I.1. USO DEL TERMINO DENGUE.

La primera epidemia descrita como una enfermedad que presentara los mismos síntomas clínicos del dengue, fue en Filadelfia en 1780, Benjamín Rush mencionó: "el nombre más común que la gente de todas clases empleaba para describir la enfermedad era fiebre quebranta huesos". Existen archivos de 1971 indican que el uso del termino quebranta huesos estaba muy relacionado con la fiebre, en este siglo la fiebre era considerada una enfermedad no un síntoma, la cual podía ser definida como cambios en la temperatura y en el pulso del enfermo, sugiriendo que el termino quebranta huesos fue parte de la taxonomía de la enfermedad febril en ese tiempo. Orozco en 1977 postula que fue en España donde el término dengue fue por primera vez asignado como el nombre de una enfermedad, basándose en el significado de la palabra y en la analogía con otros sobre nombres usados(Rigau, 1998).

Sin embargo fue hasta 1801, que se cuenta con archivos donde se demuestra que el término dengue ya era utilizado para describir una enfermedad aguda febril con hemorragia e ictericia, dolores en articulaciones y huesos. Fue en Aranjuez, España en el mes de Junio de 1801 que la reina Luisa escribía cartas al principal ministro Manuel Godoy (su amigo y allegado amor, la cabeza del ejercito Español) describiendo la enfermedad que padecía explicando era un resfriado que estaba de moda al cual la gente llamaba dengue. Además el clima en Aranjuez en ese tiempo era muy lluvioso, también reportaba que Madrid había tenido una epidemia de resfriados igual que en Aranjuez. Es imposible afirmar que los síntomas presentados en la reina fueran a causa del virus de dengue, pero es claro que el término dengue era usado en esa época para referirse a una enfermedad aguda febril similar al síndrome causado por una infección con el virus de dengue. (Rigau, 1998).

Sobre la base del Diccionario Ingles de Oxford, el término se originó de la frase Swahili *Ka dinga pepo* la cual significa un tipo de ataque parecido a la sacudida de un espíritu maligno o plaga (Rigau, 1998)

I.2. CARACTERÍSTICAS CLINICAS DEL DENGUE

El dengue puede causar una infección que puede ser desde asintomática o fiebre indiferenciada, hasta la Fiebre Hemorrágica del dengue (FHD) que causa una gran perdida de sangre y plasma que puede conducir a shock hipovolémico (síndrome de choque por dengue, SCD). Las características clínicas del dengue pueden ser clasificadas en cinco tipos:

-
- ⊗ Enfermedad febril no específica
 - ⊗ Dengue clásico o Fiebre de Dengue (FD)
 - ⊗ Fiebre Hemorrágica del dengue (FHD) o dengue hemorrágico.
 - ⊗ Fiebre Hemorrágica del dengue con Síndrome de Choque por Dengue (SCD)
 - ⊗ Otros inusuales síndromes como encefalopatía y falla del hígado fulminante (Gibbons, et al, 2002)

I.2.1. DENGUE CLÁSICO O FIEBRE DE DENGUE (FD)

Es una enfermedad febril caracterizada por cefalea frontal, dolor retro-orbital, dolor muscular y articular, náusea, vómito y exantema; el periodo febril dura de 5 a 7 días; el exantema observado es enrojecimiento facial, cuello y tórax en el inicio de la fiebre o un exantema máculo-papular que surge en el tercero o cuarto día. En este padecimiento el síntoma cardinal va a ser la fiebre (hasta 40°C). No existen datos patognomónicos.

Otros datos menos frecuentes son la fotofobia, conjuntivitis, hiperemia faríngea. Otras manifestaciones incluyen dolor abdominal leve, náuseas, vómitos, diarrea, alteraciones del gusto, prurito generalizado, insomnio, temor, depresión, así como bradicardia relativa y adenopatías. La hepatomegalia y la esplenomegalia son más fáciles de detectar en niños. En las mujeres con o sin embarazo se puede presentar sangrado transvaginal o metrorragia. Para establecer el diagnóstico diferencial es muy útil estudiar la secuencia con la que aparecen los signos y síntomas. Así como considerarse si el paciente reside o haya estado en una zona endémica en las últimas dos semanas.

No hay datos patognomónicos, pero se pueden ver alteraciones como en cualquier otra infección viral tales como: leucopenia, linfocitosis y en algunos casos una discreta trombocitopenia (con plaquetas debajo de 100, 000 por mm³). Se recomienda, con el propósito de tener una medición basal, que a todos los pacientes que acuden por primera vez a consulta se les practique una biometría hemática (hemoglobina y hematocrito) con cuenta plaquetaria y se les realice la prueba de torniquete con el propósito de determinar la fragilidad capilar, caracterizada por la aparición de petequias.

En forma idónea se debe citar al paciente entre el tercer y quinto día después de haber iniciado la fiebre o antes en caso necesario, para evaluación clínica y constatar que no existan datos de alarma y buscar intencionadamente datos de sangrado. Debe conocerse y vigilarse la aparición de datos de alarma, así como de sangrado a cualquier nivel e informar al paciente de los datos de alarma. El dolor abdominal persistente e intenso se considera como signo de alarma importante por lo que deberá acudir de inmediato al médico.

I.2.2 FIEBRE HEMORRAGICA DEL DENGUE (FHD)

El dengue hemorrágico puede ir precedido o no de un cuadro de dengue clásico, puede seguir inmediatamente después de los síntomas de dengue clásico el cual se convierte así en un dengue hemorrágico, o bien puede aparecer como una enfermedad aislada, en la que hay el antecedente de que el paciente padeció dengue, el cual pudo haber pasado como una infección asintomática o inespecífica.

El dengue hemorrágico se manifiesta por fiebre, trombocitopenia (con menos de 100, 000 plaquetas por mm^3) y extravasación de plasma manifestada como hemoconcentración (elevación del hematocrito mayor del 20%). Puede o no tener hemorragias evidentes. Cuando existe hemorragia se presenta generalmente después de las primeras 48 horas, aunque puede ocurrir desde el inicio del cuadro clínico.

La hemorragia se presenta como epistaxis, gingivorragia, sangrado en los sitios de venopunción, equimosis, petequias, hematomas, hemoptisis, hematemesis, melena, hematuria, sangrado transvaginal, hemorragia parenquimatosa en sistema nervioso central, parénquima pulmonar, a nivel renal, hemorragia conjuntival, etc. En las mujeres se puede manifestar un sangrado transvaginal anormal, siendo de alto riesgo en las embarazadas consiguiendo ser confundido como aborto o amenaza de aborto.

Otras manifestaciones por afección visceral son hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia e incluso insuficiencia hepática, insuficiencia renal, miocardiopatía, hiporexia, dolor abdominal intenso (abdomen agudo) y alteraciones del estado de alerta, postración.

Para considerarse dengue hemorrágico debe tener un recuento plaquetario de menos de 100, 000 por mm^3 o hemoconcentración; la hemoconcentración indica extravasación de plasma, con una elevación del hematocrito igual o mayor al 20%. Y cuando menos debe presentar uno de los siguientes datos: disminución de 20% del hematocrito después del tratamiento de reposición de volumen, hipoproteinemia, derrame pleural, ascitis y prueba de torniquete positiva.

Al realizar los exámenes de laboratorio podemos encontrar trombocitopenia y hemoconcentración de manera constante. Por lo general de 3 a 8 días después del inicio de la enfermedad, el recuento de las plaquetas es inferior a 100, 000 por mm^3 . La linfocitosis con linfocitos atípicos, suele encontrarse al final de la fase febril. Puede existir albuminuria y sangre oculta en heces.

I.2.3. GRADOS DEL DENGUE HEMORRÁGICO.

El dengue hemorrágico es clasificado en cuatro grados de severidad; los grados III y IV son considerados como síndrome de choque por dengue (SCD) (Figura 1).

Grado I

Fiebre acompañada de hepatomegalia, trombocitopenia e incremento de la permeabilidad vascular. La única manifestación hemorrágica es una prueba positiva del torniquete.

Grado II

Hemorragia espontánea además de las manifestaciones de los pacientes del grado I, generalmente en forma de hemorragia cutánea aguda y/o de otra localización.

Grado III

Insuficiencia respiratoria que se manifiesta en pulso rápido y débil, estrechamiento de la tensión arterial (20 mm de Hg o menos) o hipotensión, con presencia de agitación y piel fría y húmeda.

Grado IV

Choque profundo con presión arterial y pulsos imperceptibles. La presencia de trombocitopenia y hemoconcentración simultánea diferencia el dengue hemorrágico de grados I y II del dengue simple.

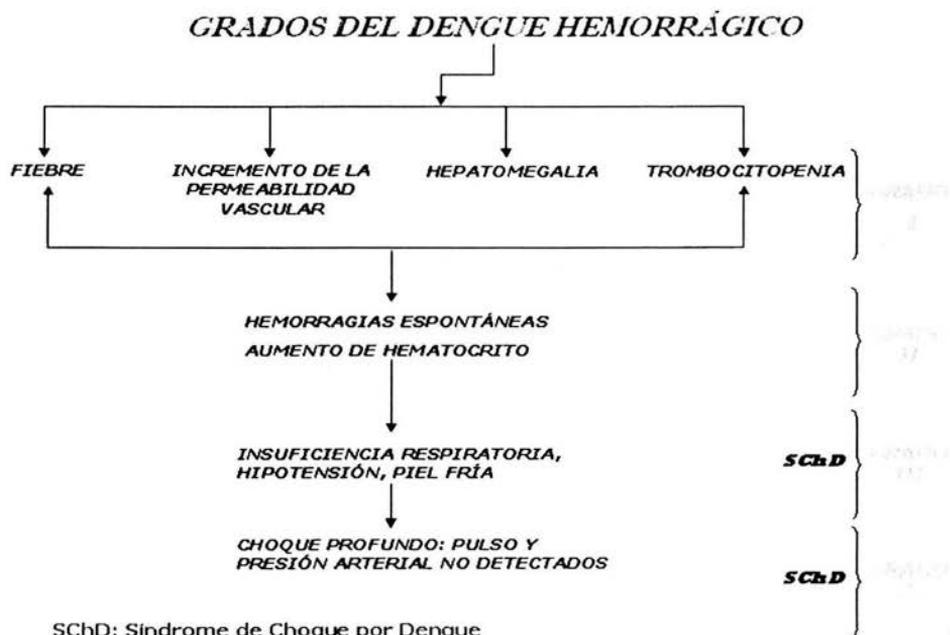


Figura 1. Grados del Dengue Hemorrágico.

1.2.4. SÍNDROME DE CHOQUE POR DENGUE (SCD).

El choque por dengue se define como una falla circulatoria (presión de pulso más o menos de 20 mm Hg), hipotensión o choque franco, que se presenta entre el 3° y 7° día de la enfermedad. Puede ir precedido por dolor abdominal intenso, sostenido y con datos de irritación peritoneal, vómito persistente, descenso brusco de la fiebre hasta la hipotermia, acompañado de sudoración, adinamia, inquietud o somnolencia, entre otras. Después de dos o tres días de fiebre, el paciente presenta signos y síntomas de falla circulatoria, con pulso rápido y débil o imperceptible, piel fría, llenado capilar lento, hipotensión con una sistólica menor de 90 mm/Hg, alteraciones del estado de la conciencia que va desde la inquietud, agitación, confusión, letargo y coma. Además de oliguria, anuria, evolucionando rápidamente en pocas horas a coagulación intravascular diseminada y/o fibrinólisis; falla orgánica múltiple y muerte. Los pacientes con un manejo vigoroso y adecuado pueden remitir en un periodo de 24 a 48 horas sin secuelas.

1.3. TEORÍA SOBRE EL MECANISMO DE LA FIEBRE HEMORRÁGICA POR DENGUE.

Los antígenos virales del virus de dengue han sido encontrados en una variedad de tejidos, predominantemente en el hígado y sistema reticuloendotelial. Sin embargo la replicación viral parece estar restringida a células de la línea fagocítica mononuclear, primariamente en los macrófagos, aunque en células dendríticas (células de Langerhans) en la piel pueden ser un blanco temprano de la infección (Shuenn, et al, 2000). El fagocito mononuclear es la más importante célula blanco para la infección con dengue, fundamentándose en este dato la teoría de la inmunoamplificación dependiente de anticuerpos (IDA) es basada en el razonamiento de que entre mayor sea el número de fagocitos infectados, más severa es la enfermedad (Healsted, 1998). La teoría de inmunoamplificación o aumento de la infección mediado por anticuerpos heterotípicos no-neutralizantes, fue requerida para explicar la patogénesis de FHD y SCD. La hipótesis propone: los anticuerpos del virus de dengue se unen al virus de diferente serotipo, formando un complejo virus-anticuerpo no neutralizante, la región expuesta del anticuerpo (Fc) se une al receptor Fc de monocito-macrófagos, facilitando la penetración viral, obteniendo una productiva infección para el virus (Halstead, 1988). En una infección altos títulos virales pueden resultar en una cascada de amplificación de citocinas y activación del complemento causando disfunción endotelial, destrucción de plaquetas y consumo de factores de coagulación, lo cual resulta en perfusión del plasma y manifestaciones hemorrágicas. (Gibbons, et al, 2002).

Estudios "in vitro" e "in vivo" han mostrado que el complejo anticuerpo-antígeno juega un importante papel en la infección de los fagocitos mononucleares. El dengue se replica en altos títulos en cultivos de monocitos humanos en presencia de anticuerpos heterotípicos o anticuerpos homotípicos a concentraciones subneutralizantes que en cultivos tratados de igual manera pero sin anticuerpos (Halstead, et al, 1977, Kliks, et al, 1989).

Se ha observado que la FHD ocurre principalmente en niños que han sufrido una segunda infección con un serotipo del virus diferente del que los infectó en la primera infección. Para comprobar "in vitro" esta propuesta se realizó un estudio donde se emplearon anticuerpos de reactividad cruzada con otros serotipos pero que no son neutralizantes. Demostrando que células de macrófagos son más fácilmente infectadas en presencia de estos anticuerpos (Kliks, et al, 1989, Morens, et al, 1990). Así mismo, los antígenos virales son presentados por las células infectadas en el contexto de MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad), llevando a la estimulación y activación de linfocitos T CD4 + y CD8 +. Una de las consecuencias de la activación de las células T es la producción de una cascada de citocinas, principalmente interferón γ , el cual activa otras células incluyendo macrófagos, los cuales aumentan la expresión del receptor Fc y MHC. Todo esto pone en marcha una reacción en cadena de tipo inmunopatológica. Otra citosina que juega un papel importante en la severidad de la enfermedad es el factor citotóxico humano (FCh) que induce un cambio que va de una respuesta tipo Th-1 a una respuesta Th2. (Chaturvedi, et al, 2000).

Otros factores como son la activación del complemento, activación de plaquetas y la producción de citocinas citotóxicas, (factor de necrosis tumoral- α , interleucina-1 y interleucina-6) por macrófagos, linfocitos y células epiteliales y endoteliales podrían contribuir a la elevación de esta cascada de eventos inflamatorios. Este es un fenómeno que no sólo ocurre en la infección con el virus de dengue si no también puede ocurrir con otras infecciones, sin embargo, en estas otras enfermedades no hay progreso a hemorragias severas, como en el caso del virus de dengue, lo que sugiere existen otros factores involucrados en la severidad de la enfermedad, como la demostración de que la replicación del virus en células infectadas induce estrés llevando a la célula a apoptosis, lo que también contribuiría a la complicación de la enfermedad (Marianneau, et al, 1998).

En los casos fatales de FHD/SCD los cambios fisiológicos más importantes están relacionados con un cuadro hemorrágico que se asocia con trombocitopenia, alteraciones de la coagulación, vasculopatía y coagulación vascular diseminada. El incremento en la permeabilidad vascular conduce a la salida del compartimiento vascular del plasma, proteínas de bajo peso molecular y electrolitos lo que resulta en choque hipovolémico. Esto puede ocurrir como consecuencia de las alteraciones fisiológicas producidas por mediadores químicos como la histamina que se libera de los basófilos/células cebadas como consecuencia de la activación del complemento, los leucotrienos, prostaciclina, prostaglandinas y otros mediadores liberados por los macrófagos infectados. El leucotrieno C liberado por los macrófagos, por ejemplo, es 1000 veces más potente que la histamina y los metabolitos del ácido araquidónico son capaces de inducir hipotensión sistémica, alterar la permeabilidad y afectar la microcirculación cutánea. Muchas de estas alteraciones también son inducidas por las interleucinas como Factor de Necrosis Tumoral (TNF-) (MacBride, et al, 2000).

I.4. FACTORES DE RIEGO PARA EL DESARROLLO DE FHD/SCD.

El desarrollo de fiebre Hemorrágica del dengue ha llevado a investigar los factores que se encuentran involucrados y que originan la severidad de la enfermedad. Los factores son de 3 tipos: factores de riesgo del individuo, factores de riesgo epidemiológicos y factores virales.

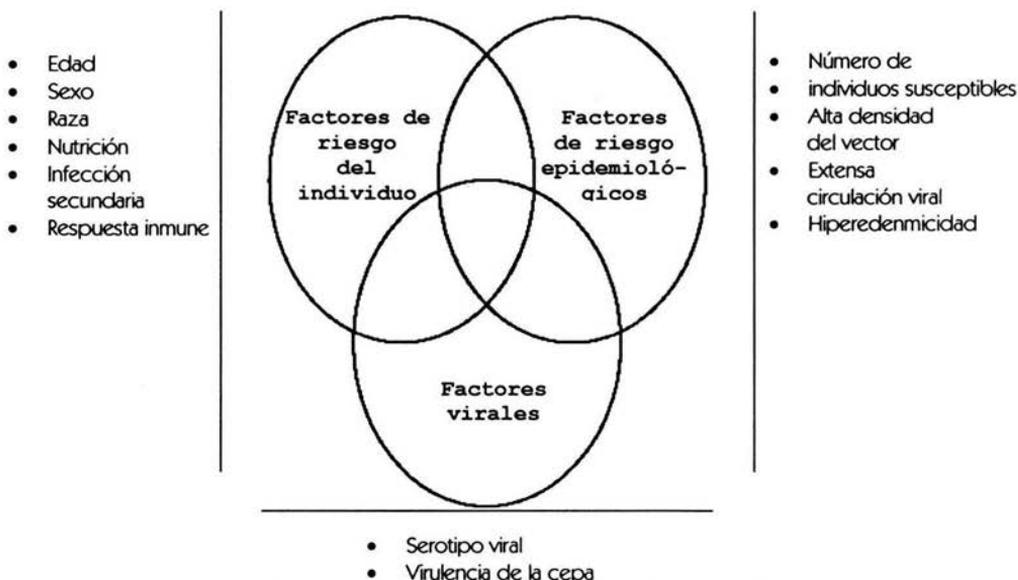


Figura 2. Factores de riesgo para FHD y SCD

La intersección de estos tres grupos de factores (Figura 2) determina el acontecimiento de epidemias de FHD. Una alta densidad de vector, una amplia circulación del virus y una población susceptible (con riesgo de infección secundaria) son necesarias para obtener un incremento en el número de casos de FHD. En general los factores epidemiológicos y virales son los determinantes para una epidemia. Y los factores de riesgo individuales determinan la aparición de la enfermedad en una persona en particular, en una población dada. La preexistencia de anticuerpos es el mayor factor de riesgo, pero no el único para que acontezca la forma severa de la enfermedad.

Los factores de riesgo del individuo como son sexo, raza, y enfermedades crónicas son factores que predisponen que la enfermedad sea más frecuente en cierta raza o grupo de edad. (Halstead, 1998). Los niños están en mayor riesgo que los adultos de adquirir FHD, según lo reportado por Cuba (Guzmán, et al, 1990). En niños recién nacidos la madre es capaz de transmitirle anticuerpos contra el dengue durante la lactancia o durante el embarazo, lo que los pone en peligro de desarrollar las formas severas de la enfermedad.

En cuanto al virus se han deducido la secuencia de aminoácidos y nucleótidos de diferentes serotipo y su comparación ha demostrado que mutaciones podrían ser importantes para la atenuación. Dos importantes genotipos para DEN-2 se han identificado, uno originado de Asia, relacionado con las epidemias de FHD en Asia y América; y el otro es el genotipo Americano, que únicamente se le ha relacionado a epidemias de fiebre de dengue. Cualquiera de los cuatro serotipos del virus de dengue puede estar relacionado con las formas severas de la enfermedad, sin embargo se ha postulado que resulta de una infección secundaria, con un serotipo diferente al que causo la primera infección, esto ayuda a comprender la patogénesis de la enfermedad.

Las recientes epidemias de FHD y SCD en el Caribe han sido a causa de la introducción del virus de dengue originario de Asia, como claro ejemplo tenemos la epidemia en 1981 en Cuba a raíz de la entrada del serotipo 2 de Vietnam y que esta misma cepa pudo haber causado la epidemia en 1989-90 en Venezuela con 6 000 casos de FHD/SCD. El virus DEN-3 probablemente originario de la India o Sri Lanka causaron la mayor epidemia de FHD/SCD en Nicaragua en 1994. Un diferente DEN-3, pero también originario de Asia causo la epidemia de FHD/SCD en Tahití donde previas epidemias con dengue 1,2 y 3 habían sido considerablemente menos severas (White, 1999). Otro estudio epidemiológico realizado en Perú proporciona la evidencia de que la infección secundaria con el genotipo DEN-2 Americano no causa FHD/SCD posiblemente por que este genotipo carece de las propiedades necesarias para causar las formas severas de la enfermedad, contrario al genotipo originario de Asia (Watts, et al, 1999). En resumen se sugiere que el virus originario de Asia posee una determinada virulencia que esta ausente en los virus originados de otros países.

En necesario analizar las secuencias genéticas de estos virus, para comprender las bases moleculares de la virulencia y los mecanismos patogénicos involucrados en FHD/SCD necesarios para el desarrollo de vacunas efectivas (White, 1999). El virus de dengue es altamente mutagénico, la RNA polimerasa dependiente de RNA es una enzima con aproximadamente un error por vuelta de replicación. Además de la mutación la diversidad genética de los virus es generada por recombinación, en el cual la polimerasa cambia a la mitad de la replicación, entre los genomas de dos virus de un serotipo que han infectado la misma célula, generando una molécula híbrida de RNA. Esta recombinación intra-serotipos es relativamente rara comparada con la mutación. Otra manera en la cual la variación genética puede entrar en la población es vía la migración (flujo genético), datos indican que el virus de dengue es frecuentemente transportado largas distancias por los hospederos y vectores, los serotipos y genotipos se han distribuido ampliamente geográficamente. Así, la mezcla de cepas de incrementa la oportunidad de recombinar y generar mayor diversidad. Lo importante es señalar que el aumento en la variación genética es un factor para generar la severidad de la enfermedad, esto hace que el control de la expansión del virus sea una acción inmediata (Holmes, et al, 2000).

CAPITULO II. DISTRIBUCIÓN DEL DENGUE Y *Ae. aegypti*

El dengue es una enfermedad muy descuidada, llegando a ser conocida como una de las principales enfermedades infecciosas del mundo. La infección es actualmente reconocida como una pandemia, con registros de prevalencia en 101 países (Figura 3) (Jelinek, 2000). En muchas áreas, las epidemias del dengue ocurren durante las estaciones calientes, húmedas, de lluvias, debido a que a estas condiciones favorecen el crecimiento y desarrollo del mosquito.

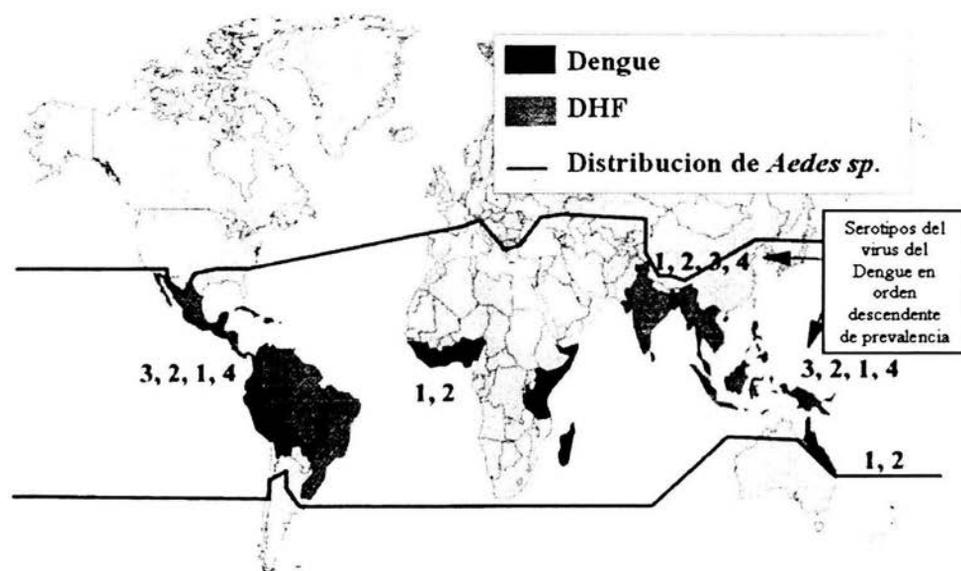


Figura 3. Distribución del Dengue y Fiebre Hemorrágica del dengue. El Dengue se presenta principalmente en las áreas tropicales de Asia, Oceanía, África, y de América. La distribución básicamente está limitada con base en la distribución de su vector *Aedes sp.* (Jelinek, 2000)

El rango geográfico del dengue ha crecido en las últimas dos décadas, principalmente por la expansión de su principal vector *Ae. aegypti*. También a causa del incremento de asentamientos irregulares de casas en áreas tropicales de muchas ciudades, de la invasión o incursión del hombre en zonas tropicales para la construcción de vías de comunicación (carreteras, puentes, etc.).

El mosquito *Ae. aegypti* se adapta a vivir bien en el medio urbano; logran utilizar los recipientes de desecho, latas, jarras de agua, que se encuentran cerca de los hogares del hombre para ovopositar y multiplicarse. Y las hembras transmiten el dengue fácilmente por su predilección a la sangre humana. Lo grave es que en varios lugares donde el dengue es endémico, el control y vigilancia del mosquito son inexistentes o están muy lejos de ser exitosas (Jelinek, 2000).

Además los movimientos migratorios han permitido que humanos infectados importen los serotipos del virus. Estos factores pueden cambiar una región no endémica (el virus no este presente) o hipo endémica (un único serotipo presente) a una hiperendémica donde hay múltiples serotipos presentes (Gibbons, et al, 2002).

II.1. DISTRIBUCIÓN DEL VECTOR *Ae. aegypti* EN MÉXICO

La distribución geográfica del vector *Ae. aegypti* en México predomina en áreas costeras, hacia la zona meridional del país, donde las condiciones ecológicas son favorables para el desarrollo y crecimiento del mismo: altitudes menores a los 1,400 msnm, temperatura y humedad, entre otros factores (Figura 4),

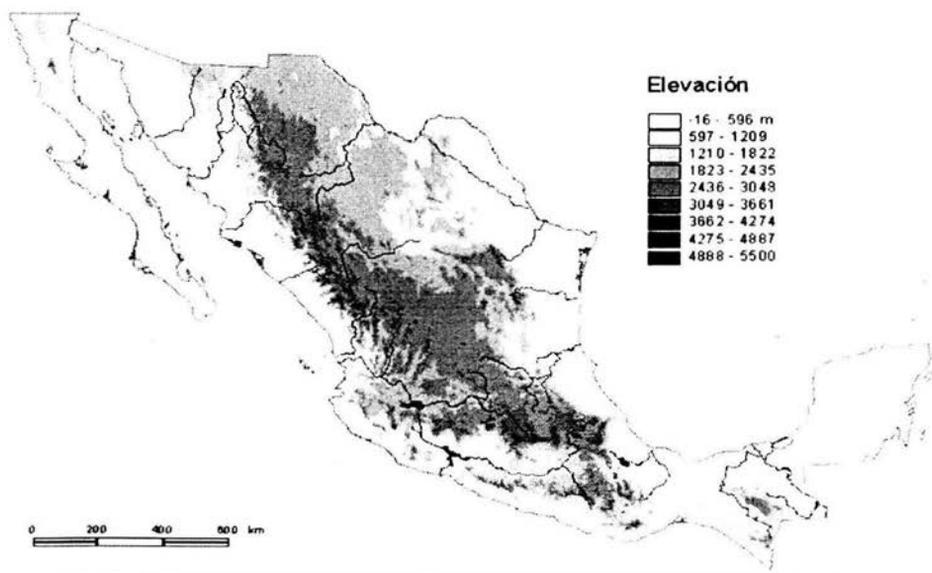


Figura 4. Distribución de *Aedes aegypti* en México

II.2. DENGUE EN MÉXICO

En México:

- ♂ En 1963 se consigue la erradicación certificada de *Ae. Aegypti*
- ♂ En 1967 se reinfesta el país con *Ae. aegypti*
- ♂ En 1971 se tiene el primer reporte de dengue post- erradicación
- ♂ En 1984 de tiene el reporte de FHD

Actualmente, en México el vector *Ae. aegypti* se encuentra amplia y densamente distribuido en el país además de que se ha detectado la circulación de los cuatro serotipos virales en varias entidades del país, estas condiciones ponen al país en riesgo para que existan no solo epidemias de dengue sino también de sus formas severas.

El dengue reapareció en el país, a consecuencia de la reinfestación con el vector *Ae. aegypti*, en la década de los setenta, en la frontera sur. (Narro, et al, 1995). Desde 1980 el dengue en México ha tenido tasas de incidencia moderadas, aunque existe el riesgo de que pueda aumentar considerablemente su participación en la mortalidad general. El dengue en México es una de las prioridades nacionales en la salud pública, es considerado modelo emergente, es decir, es una enfermedad de origen infeccioso cuya incidencia en poblaciones humanas aumenta en las últimas dos décadas o amenaza con incrementarse en el futuro inmediato (Narro, et al, 1995).

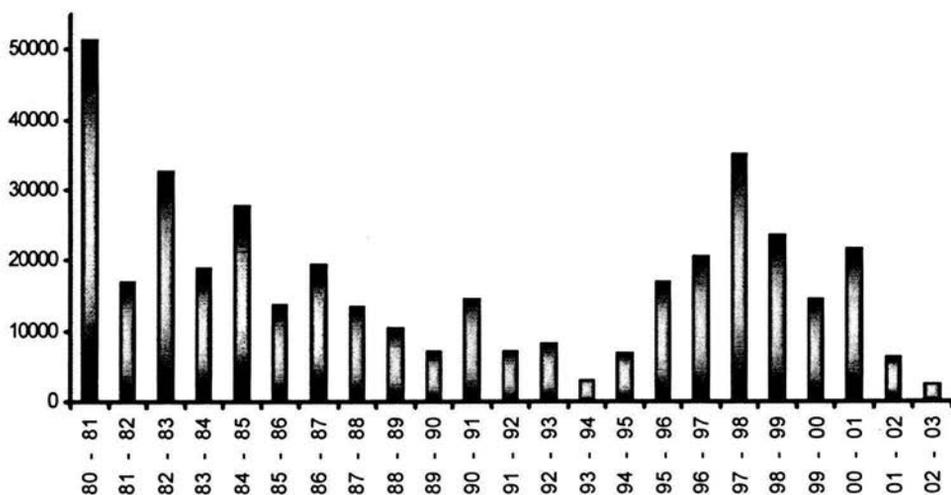


Figura 5. Gráfica de casos de Dengue clásico en México desde 1980 al 2003. Fuente: http://rhonh.b3e.jussieu.fr/DengueNet/pages/f_activity.html

Los registros de transmisión de dengue en México datan de 1941, cuando se notificaron 6955 casos y una tasa de incidencia de 34.4 por cada 100,000 habitantes; cifras que descendieron debido a que se consiguió erradicar el vector, certificada hasta 1963. El dengue clásico reapareció en México en los años setentas, se reintrodujo por la frontera sur con Guatemala en el municipio de Tapachula, Chiapas. Al año siguiente se diseminó rápidamente por nueve estados, siendo Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Veracruz y Yucatán los más afectados.

En 1980 se presentó una de las mayores epidemias registradas hasta el momento con 51 406 casos de dengue clásico (Figura 5), afectando a quince estados, y en donde sobresalen los estados de Coahuila, Chiapas, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, reportando casos por primera vez, Coahuila, Hidalgo, Morelos, Nuevo León, Querétaro y Zacatecas.

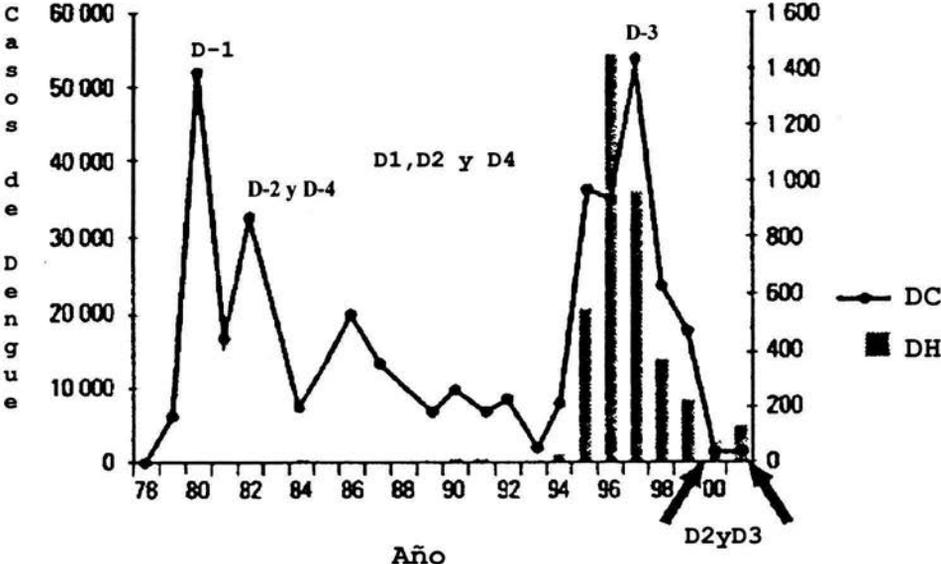


Figura 6. Dengue y Dengue Hemorrágico y serotipos identificados en México, 1978 a la semana 40 del 2001.

Los serotipos DEN-1, DEN-2 y DEN-4 han circulado ampliamente en nuestro país desde principios de los años ochenta (Figura 6); el serotipo DEN-3 no había estado presente en México durante los últimos 30 a 40 años, hasta su reciente aislamiento en septiembre de 1995 en los estados de Chiapas (Tapachula y Suchiapa) y San Luis Potosí (Ebano), y en octubre del mismo año en estado de Veracruz (Jalapa).

El país experimentó varias epidemias de dengue clásico, durante la década de los ochenta. De 1980 a 1982 se originaron extensas epidemias causadas por el serotipo DEN-1 y por primera vez las ciudades del Pacífico y las áreas costeras del Golfo de México se vieron afectadas. En 1982 se detectó la transmisión por los serotipos DEN-1 y DEN-4 en los estados de Oaxaca y Tamaulipas, notificándose casos en los estados del Océano Pacífico hasta Sinaloa, además de Guerrero y Puebla. De 1983 a 1986 los informes virológicos demostraron la circulación de los serotipos DEN-1, DEN-2 y DEN-4. Integrándose a la endemia nacional el estado de Jalisco. La intensidad de estos brotes varió en diferentes años, estando la mayoría de ellos asociados al DEN-1.

Entre 1978 y 1984 se reintrodujeron DEN-1, DEN-2 y DEN-4 prevaleciendo por más de una década y produciendo múltiples epidemias en amplias zona del país. A partir de la semana 32 de 1995 se detectó el serotipo DEN-3 del que no se tenía antecedentes en México, actualmente circulan los cuatro serotipos en México.

Entre 1990 y 1993 se observó un decremento importante en la incidencia del dengue clásico dando la apariencia de un control de la enfermedad, la que sin embargo, nuevamente se extiende y dispersa a partir del descubrimiento de las **formas hemorrágicas de 1994**. Entre 1994 y 1998 se registraron 155 011 casos con una media anual de 31,002. Para 1999 se notificaron 14 667 casos en 21 entidades federativas y se identificó la circulación por el territorio nacional de los cuatro serotipos de dengue, en los estados de Coahuila y Tamaulipas fue simultánea.

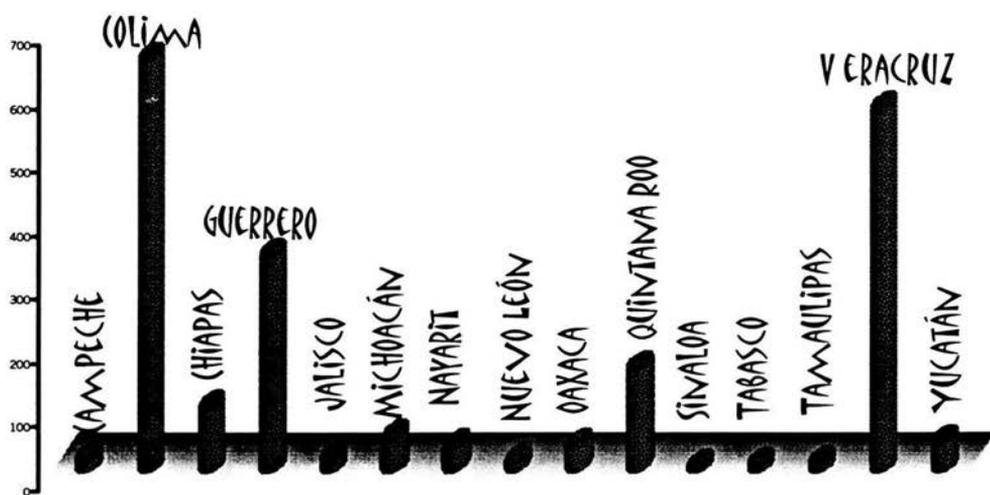


Figura 7. Casos por entidad federativa de Dengue Clásico periodo 2002 hasta la semana epidemiológica 21 del 2003. FUENTE: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica. Información preliminar. S.S.

De 1978 a 1999 se han reportado 418 281 casos y son siete entidades federativas las que acumulan el mayor porcentaje de los casos:

- ⌘ Veracruz
- ⌘ Tamaulipas
- ⌘ Guerrero
- ⌘ Sinaloa
- ⌘ Oaxaca
- ⌘ Nuevo León
- ⌘ Chiapas

De los datos estadístico más recientes que obtuvimos fueron los proporcionados por la Secretaria de Salud (Figura 7).

II.3. DENGUE HEMORRÁGICO EN MÉXICO

El dengue hemorrágico en México cobra importancia a partir del diagnóstico de 30 casos durante los meses de noviembre y diciembre de 1994, cuando se reportaron 7 defunciones; en 1995 se confirmaron 539 casos y 30 defunciones. Para 1996 se notificaron 1456 casos y 4 defunciones con una tasa de letalidad de 3.8. En 1997 se reportaron 981 casos y 37 defunciones con una letalidad de 3.8 y durante 1998 372 casos y 14 defunciones. En 1999 se presentó el menor número de casos y decesos desde 1995, registrándose 129 casos. El estado de Nuevo León fue el más afectado con una letalidad de 6.2. En el 2000 se notificaron 67 casos con una letalidad de cero. Desde 1994 a la fecha, en las ciudades de Mérida en el estado de Yucatán; Reynosa, Matamoros, Madero y Tampico en Tamaulipas; Mazatlán y Culiacán en Sinaloa; Poza Rica, Coatzacoalcos, Minatitlán, y el área metropolitana del Puerto de Veracruz en el estado de Veracruz; Hermosillo en Sonora; Colima y Manzanillo en el estado de Colima; Tuxtla Gutiérrez y Tapachula en Chiapas; el



Figura 8. Entidades de México con Dengue Hemorrágico

área metropolitana de Monterrey en Nuevo León; y aunque en menor intensidad en centros turísticos de importancia internacional en los estados de Guerrero (Acapulco) y Quintana Roo (Islas Mujeres, Cozumel y Cancún), son algunas de las ciudades que más casos de FHD han registrado (Figura 8).

En este panorama se aprecia que FHD afecta las principales ciudades urbanas y centros turísticos del país, que se encuentran por debajo de los 1800 metros sobre el nivel del mar, tanto al nivel de las costas como en valles y planicies de esos estados.

Actualmente varias son las entidades federativas que presenta casos de fiebre hemorrágica y aunque esta se ve afectada por los factores climatológicos que afecten de cada entidad, como por ejemplo en la gráfica 8 obtenida de la fecha del 2002 al 2003, se observa un incremento de los casos en el estado de Colima y Nayarit a causa de la presencia de un huracán por esta zona. Pero a pesar de estos cambios varias de ellas siguen siendo las principales afectadas como Guerrero, lo que indica que las estrategias de control empleadas en estos lugares no son del todo efectivas o en todo caso no son correctamente llevadas a cabo.

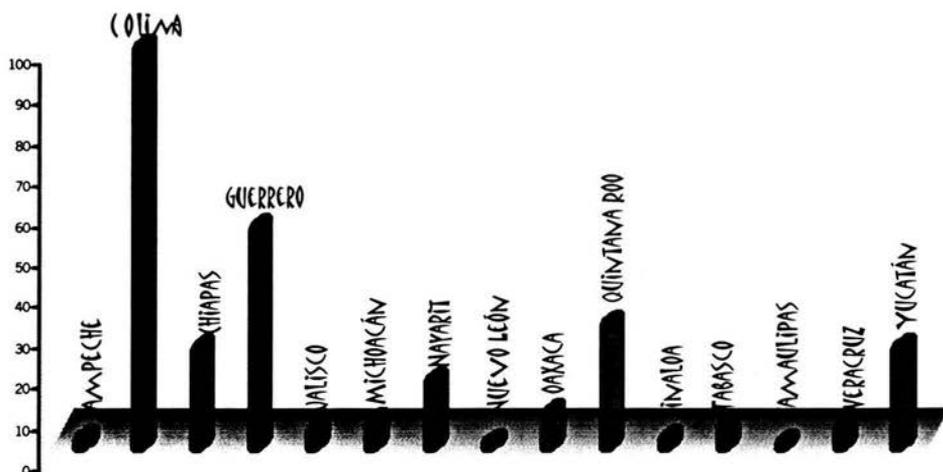


Figura 9. Casos por entidad federativa de Dengue Hemorrágico, periodo 2002 hasta la semana epidemiológica 21 del 2003. FUENTE: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica. Información preliminar.

CAPITULO III. VACUNAS

Aunque la vacunación proporciona una medida de protección contra muchas enfermedades, actualmente no hay vacuna disponible para el control del dengue. El mayor obstáculo para el desarrollo de una vacuna contra dengue es la necesidad del desarrollo de una que sea tetravalente, es decir, que incluya componentes que induzcan inmunidad protectora simultánea contra los cuatro serotipos. Sin embargo no se ha dejado de trabajar y hasta ahora se han desarrollado varias vacunas que en un futuro podrían usarse en todo el mundo, (Tabla 1).

Virus	Vacuna			
	Actualmente		Experimental	
	Viva (atenuada)	Inactivada	Viva (atenuada)	Inactivada
Dengue 1	No	No	Si €	No
Dengue 2	No	No	Si €	Si
Dengue 3	No	No	Si €	No
Dengue 4	No	No	Si €	No
Encefalitis japonesa	Si (en china)	Si	Si	No
Encefalitis transmitida por garrapatas	No	Si	No	Si
Fiebre amarilla	Si	No	Si	No

Tabla 1. Vacunas contra flavivirus desarrolladas actualmente y en experimentación.

□: Vacuna tetravalente contra el dengue está siendo probada en ensayos clínicos

Una vacuna candidata del virus de dengue atenuado es desarrollada en Thai en colaboración con Aventis-Pasteur quienes han empleado DEN-1 (cepa 16007, PDK 13), DEN-2 (cepa 16681, PDK 53), DEN-3 (cepa 16562, PGMK 30, FrhL 3) y DEN-4 (cepa 1036, PDK 48); consiguen atenuar lo virus pasándolos por cultivos celulares primarios de riñón de perro (PDK). El pase de DEN-3 en células PDK no atenúa el virus, pero se consigue usando células de riñón de mono verde (PGMK) y células fetales de rhesus (FrhL), esta vacuna se encuentra en ensayos clínicos (Bhamarapravati, Sutee, 2000).

El instituto de investigación Walter Reed Army en Silver Spring, Maryland desarrollo una vacuna que consiste en la atenuación de una clona S-1 del virus del DEN-2 después de haber sido pasada en cultivos celulares de DBS-FRHL-2 (Eckels, et al, 1980). La licencia de esta vacuna la posee GlaxoSmithKline Biologicals quienes se encuentran trabajando para demostrar que esta vacuna es segura y eficaz en el ser humano. Aunque este tipo de vacunas son inmunogénicas para el humano, se tiene como inconveniente el pobre desarrollo que tiene en los cultivos celulares.

Mediante el uso de la tecnología DNA recombinante se ha conseguido obtener virus atenuados. Un método consiste en obtener virus infectivos a partir de células que han sido previamente transfectadas con una clona cDNA del genoma viral, la cual lleva dentro del clon una mutagénesis sitio dirigida, así es posible obtener virus infectivos que llevan la mutación. Un ejemplo de vacuna que usa esta estrategia es la desarrollada por el Instituto de enfermedades infecciosas y alergias en Bethesda, Maryland, la cual consiste en la eliminación de genes virulentos del virus de dengue. El virus DEN-2 fue atenuado a consecuencia de la delección de 30 nucleótidos en la región no traducible del genoma viral. Al ser administrada a humanos adultos voluntarios, estos presentaron una buena respuesta antigénica además de ser una vacuna bien tolerada sin causar la enfermedad en ninguno de los voluntarios (Durbin, et al, 2001).

Otro método en el cual se ha empleado la genética recombinante es en el desarrollo de quimeras antigénicas de virus antigénicas, las cuales consisten en contener diferentes regiones "mezcladas" de diferentes virus o en el caso del dengue de diferentes serotipos. Huang desarrollo una quimera de dengue serotipo 1 y 2, la cual contiene los genes no estructurales del DEN-2 16681 y los genes estructurales de DEN-1 160007. Esta quimera induce altos títulos de anticuerpos neutralizantes de ratón contra DEN-1 y por lo cual resulta potencial candidato como vacuna para DEN-1 y como ejemplo para el desarrollo de vacuna quiméricas que contengan los cuatro serotipos (Huang, et al, 2000).

Debido a que el dengue afecta a muchos países pobres, es necesario el desarrollo de una vacuna que se de bajo costo y por lo tanto accesible.

CAPITULO IV. VIRUS DE DENGUE

IV.1. GÉNERO FLAVIVIRUS

El virus de dengue pertenece al género flavivirus, el cual comprende cerca de 71 miembros (Tabla 2) algunos de los cuales son importantes patógenos para el humano como: el dengue, el de la encefalitis japonesa, del Nilo, y la fiebre amarilla. Los virus se clasifican en base a su respuesta antigénica, sin embargo, una manera más sensitiva de hacerlo es comparando la secuencia nucleotídica o genética a partir de la cual se crean árboles filogenéticos que nos proporcionan información de evolución que existe entre los virus comparados. La clasificación genética molecular del género flavivirus (Figura 10), nos permite apreciar que se clasifican en tres grupos: el 58 % son virus transmitidos por mosquitos, el 35 % son virus transmitidos por garrapatas y el 6 % son virus que no poseen un determinado vector (Kuno, et al,1998).

VIRUS (CEPA)	VECTOR	DISTRIBUCIÓN	No. GenBank
<i>Alfuy (MRM-3929)</i>	M	Australia	AF013360
<i>Apoi (original)</i>	N (roedor)	Japón	AF013361
<i>Aroa (VenA-1809)</i>	N (roedor)	Venezuela	AF013362
<i>Bagaza (DakAr B209)</i>	M	África central	AF013363
<i>Banzi (SAH-336)</i>	M	Sur y oeste de África	L40951
<i>Batu Cave (P70-1459)</i>	N (murciélago)	Malasia	AF013369
<i>Bouboui (DakAr B490)</i>	M	África central	AF013364
<i>Bucalaza de murciélago (ugbp-111)</i>	N (murciélago)	Uganda	AF013365
<i>Bussuquara (BeAn 4073)</i>	M	Sur de América	AF013366
<i>Cacipacore (BeAn 327600)</i>	N (ave)	Brasil	AF013367
<i>Isla Carey (P70-1215)</i>	N (murciélago)	Malaysia	AF013368
<i>Cowbone Ridge (W-10986)</i>	N (roedor)	Florida	AF013370
<i>Dakar bat (209)</i>	N (murciélago)	Sur y centro África, Madagascar	AF013371
<i>Dengue- 1 (Singapore S275/90)</i>	M	Áreas semi y tropicales	M87512
<i>Dengue- 2 (Jamaica)</i>	M	Áreas semi y tropicales	M20558
<i>Dengue- 3 (h-87)</i>	M	Áreas semi y tropicales	M93130
<i>Dengue- 4 (814669)</i>	M	Áreas semi y tropicales	M17255
<i>Edge Hill (Aus C-281)</i>	M	Australia	AF013372
<i>Entebbe murciélago (UgIL-30)</i>	N (murciélago)	Uganda	AF013373
<i>Gadgets Gully (CSIRO 122)</i>	T	Australia	AF013374
<i>Iguape (SP An71686)</i>	N (roedor)	Brasil	AF013375
<i>Ilheus (original)</i>	M	Sur y Centro América, Trinidad	AF013376
<i>Meningoencefalitis de Israel (original)</i>	M	Israel, Sur de África	AF013377
<i>Encefalitis Japonesa (SA-14)</i>	M	Asia y partes del Pacífico	U15763
<i>Jugra (P9-314)</i>	M	Malasia	AF013378
<i>Juitapa (JG-128)</i>	N (roedor)	Guatemala	AF013379
<i>Kadam (MP-6640)</i>	T	Uganda, Saudi Arabia	AF013380
<i>Karshi (LEIV-2247)</i>	T	Kazakhstan	AF013381
<i>Kedougou (Dak Aar D1470)</i>	M	Senegal	AF013382
<i>Kokobera (AusMRM 281)</i>	M	Australia	AF013383
<i>Koutango (DakAr D1470)</i>	M, T	Senegal, África central	AF013384

Tabla 2. Virus que comprenden el género flavivirus. M: mosquito, T: garrapata, N: sin vector

VIRUS (CEPA)	VECTOR	DISTRIBUCIÓN	No. GenBank
<i>Kunjin (MRM61C)</i>	M	Australia, Asia	D00246
<i>Enfer. del bosque Kyasanur (W371)</i>	T	India	AF013385
<i>Langat (TP21)</i>	T	Sureste de Asia, Rusia	M86650
<i>Meaban (Breast ART707)</i>	T	Francia	AF013386
<i>Modoc (MS44)</i>	N (roedor)	Estados Unidos occidental	AF013387
<i>Leucoencefalitis de Montana</i>	N (murciélago)	Montana	AF013388
<i>Encefalitis del valle Murray (original)</i>	M	Australia, Nueva Guines Papua	AF013389
<i>Naranjal (25008)</i>	M	Ecuador	AF013390
<i>Negishi (original)</i>	N (humano)	Japón, antigua Unión Soviética	AF013391
<i>Ntaya (original)</i>	M	África del Sur y Central	AF013392
<i>Fiebre Hemorrágica Omsk (Kubrin)</i>	T	Rusia	AF013393
<i>Phnom Penh murciélago (CAMA-38D)</i>	N (murciélago)	Cambodia, Malasia	AF013394
<i>Potiskum (IBAN 10069)</i>	N (roedor)	Nigeria	AF013395
<i>Powassan (LB)</i>	T, M	Norte de América, Rusia	L06436
<i>Ri3 Bravo (M-64)</i>	N (murciélago)	Estados Unidos, México	AF013396
<i>Rocio (H-34675)</i>	M	Brasil	AF013397
<i>Royal Farm (EgArt 371)</i>	T	Afghanistan	AF013398
<i>Encefalitis de verano de Rusia (Sofjin)</i>	T	Rusia, Japón	AF013399
<i>Saboya (Dak an D4600)</i>	N (roedor)	Senegal	AF013400
<i>Sal Vieja (38TWM-106)</i>	N (roedor)	Texas	AF013401
<i>San Perlita (71V-1251)</i>	N (roedor)	Texas	AF013402
<i>Saumarez Reef (CSIRO-4)</i>	T	Australia	AF013403
<i>Sepik (MK 7148)</i>	M	Nueva Guinea Papua	AF013404
<i>Sokuluk (LEIV-400K)</i>	N (murciélago)	Kyrgyzstan	AF013405
<i>Spondweni (SAAR-94)</i>	M	África	AF013406
<i>Encefalitis St. Louis (MSI-7)</i>	M	Americana	AF013416
<i>Stratford (AUSC-338)</i>	M	Australia	AF013407
<i>Encefalitis transmitida por garrapata (TBE) subtipo Europeo (Neudoerft)</i>	T	Europa	V27496
<i>Encefalitis transmitida por garrapata (TBE) subtipo del oriente (Sofjin)</i>	T	Europa	X07756
<i>Tembusu (MM 1775)</i>	M	Sureste de Asia	AF013408
<i>THCAR</i>	M	Tailandia	AF013409
<i>Tyulenyi (LEIV-6C)</i>	T	Rusia, Oregon	AF013410
<i>Uganda S (original)</i>	M	África	AF013411
<i>Usutu (SAAR-1776)</i>	M	África	AF013412
<i>Virus del Nilo (WN) (EG-101)</i>	M, T	África, Asia, Europa	M12294
<i>Yaounde (DakAr Y276)</i>	M	República central de África	AF013413
<i>Fiebre Amarilla (YF) (Asibi)</i>	M, T	Área tropicales	K02749
<i>Fiebre Amarilla (YF) (TN-96)</i>	M	Área tropicales	AF013417
<i>Yokose (Oita 36)</i>	N (murciélago)	Japón	AF013414
<i>Zica (MR-766)</i>	M	África, Asia	AF013415

Tabla 2 continuación. Virus que comprenden el género flavivirus. M: mosquito, T: garrapata, N: sin vector

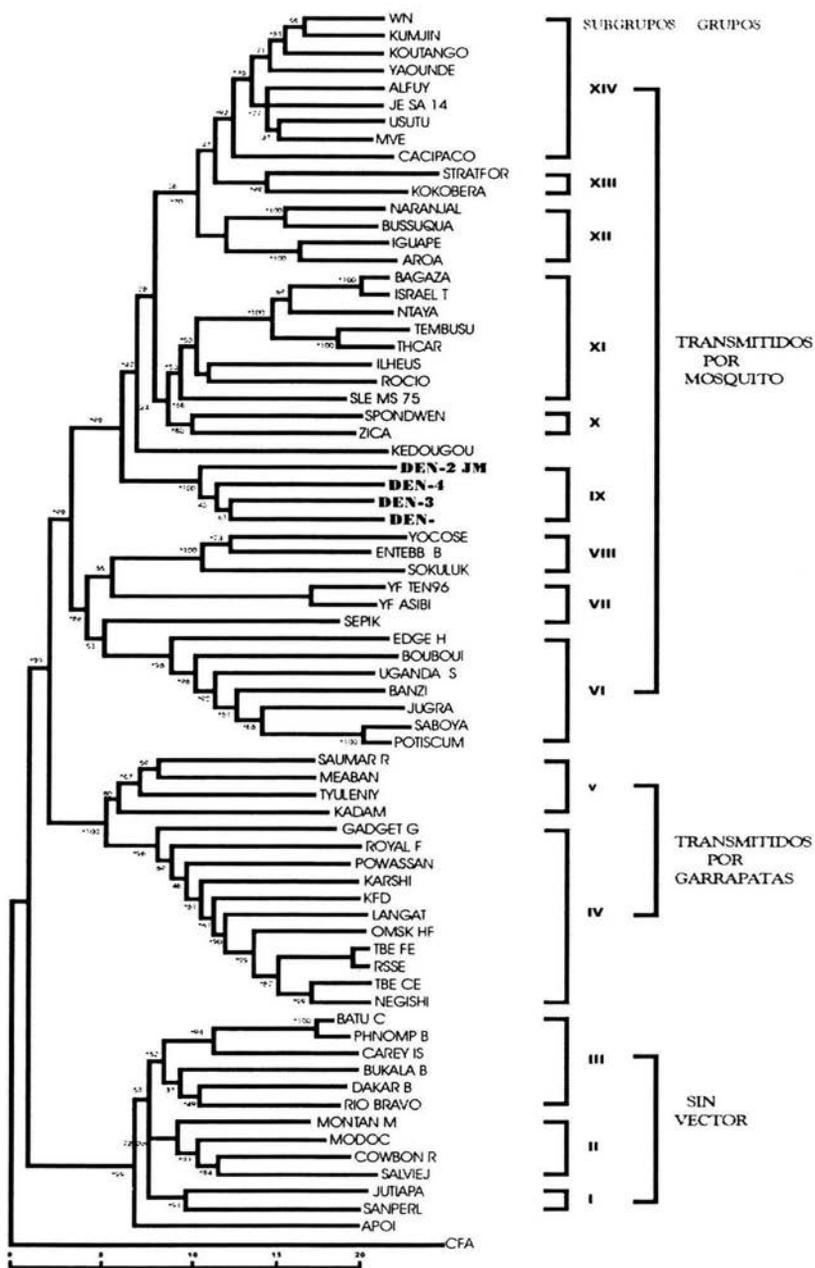


Figura 10. Arbol filogenético del género flavivirus. Realizado a partir de la comparación de las secuencias nucleotídicas obtenidas de un segmento de 1.0 kb del extremo 3' terminal de todos los flavivirus (Kuno, 1998).

IV.2. ESTRUCTURA DEL VIRUS DE DENGUE

El virus de dengue es uno de los patógenos virales más importantes transmitido al humano por el mosquito *Aedes aegypti*. Causa aproximadamente 50 millones de casos de infección a través de todo el mundo cada año y alrededor de 24,000 muertes (Gubler, 2002).

El virus de dengue (DEN) pertenece al genero flavivirus y a la familia Flaviviridae, la cual consiste de aproximadamente 68 virus, los viriones están caracterizados por una superficie relativamente lisa, con un diámetro de aproximadamente 500 Å (40-50 nm), son de forma esférica, con simetría icosaédrica (Figura 11), tienen un núcleo electrodensito cubierto por una bicapa lipídica (Kuhn, et al, 2002). Los viriones maduros sedimentan entre 170 y 210 S, están compuestos de: 6% de RNA, 66% de proteínas, 9% de carbohidratos y 17% de lípidos. En la superficie de la membrana, la proteína E y M están embebidas en la bicapa lipídica por anclajes hidrofóbicos de sus extremos carboxi terminales.

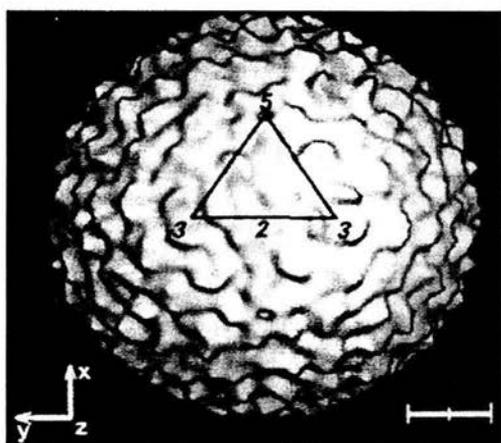


Figura 11. Partículas virales de dengue. Representación de la superficie de dengue serotipo 2, es una reconstrucción a resolución de 24 Å, que muestra en el interior una unidad asimétrica icosaédrica. Se tiene de 3 a 4 subunidades de proteína E por unidad asimétrica icosaédrica. La barra de escala representa 100 Å.

IV.2.1. GENOMA

Poseen un **genoma** de RNA de ~ 10,700 nucleótidos (Figura 12), el cual opera directamente como RNA mensajero policistrónico, es decir su transcripción origina una sola proteína. La característica más sobresaliente del genoma es que posee un solo marco abierto de lectura (MAL) de ~10 Kb abarcando mas del 90% del genoma.

La poliproteína es posteriormente procesada proteolíticamente para dar origen a 10 proteínas; 3 estructurales: la proteína de la nucleocápside (C) de 125 aminoácidos, una proteína precursora de membrana (prM) de 165 aminoácidos, y unas glicoproteínas de envoltura (E) de 500 aminoácidos; seguidas de 7 proteínas no estructurales: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, y NS5

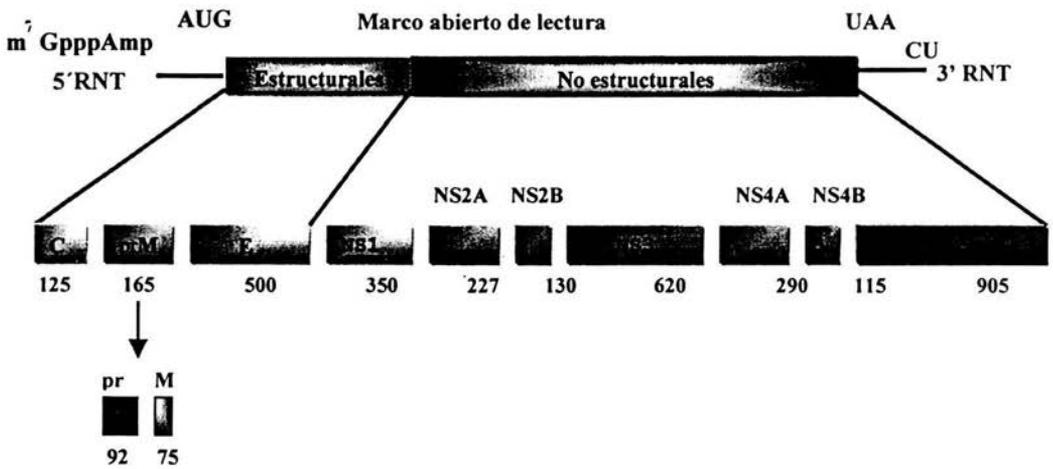


Figura 12. Estructura del genoma RNA de Flavivirus de ~ 11 Kb. Las regiones traducibles son representas por los rectángulos superiores, mientras las no traducibles por una línea. El marco abierto de lectura (MAL) comienza con el codón AUG y termina con el codón UAA. Está flanqueado por regiones no traducibles (RNT) en los extremos 5' y 3', uno metilado y otro termina con un dinucleótido CU conservado respectivamente. Las proteínas virales originadas después del proceso proteolítico de la poliproteína codifica por MAL están representadas por los rectángulos inferiores, así como su tamaño aproximado (McMinn, 1997).

Presenta regiones no traducibles (RNT) que flanquean el MAL. La región no traducible 5' esta metilada, posee de 95 a 132 nucleótidos de longitud. La RNT 3' termina con un dinucleótido CU conservado, con longitud variable de 114-624 nucleótidos. El extremo RNT 3' carece de cadena terminal de poli-A, la cual es característica del RNA mensajero.

IV.2.2. PROTEÍNAS ESTRUCTURALES Y NO ESTRUCTURALES

Proteína E. La proteína de envoltura (E) es el mayor constituyente de la superficie del virión, es la hemaglutinina viral e induce la respuesta inmune protectora, además de tener como función viral, unirse al receptor de la célula y fusión a la membrana. Esta proteína tiene gran importancia ya que determina el tropismo a determinado tejido, virulencia e inducción de la inmunidad protectora. A causa de la variación en la respuesta antigénica a la proteína E se han identificado 4 tipos antigénicos (serotipos), denominados DEN 1, 2, 3 y 4.

El tratamiento de viriones del flavivirus TBE con tripsina, libera un fragmento soluble de la proteína E (Es), la cual es una cadena polipeptídica de 1-395 aa, que se pliega formando tres dominios distintos: Dominio central β -barril de 120 residuos (dominio I o C), una región de dimerización (dominio II o A) y una región C terminal parecida a una inmunoglobulina (dominio III o B). El exterior de estas estructuras son secuencias hidrofóbicas esenciales para la fusión a la membrana, ya que ayudan a amoldarse entre las cadenas alifáticas que constituyen a la membrana (Figura 13).

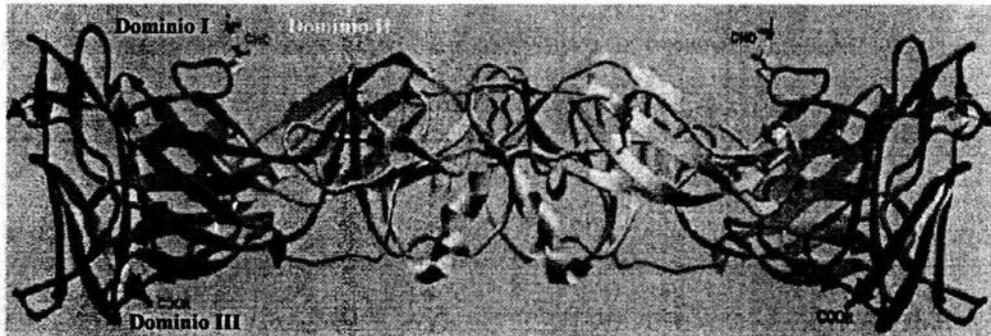


Figura 13. Representación de la dimerización de la proteína E del flavivirus TBE. Se muestran los dominios que forman parte de la proteína E

El dominio A contiene la secuencia más altamente conservada de la proteína E y por lo tanto no es raro encontrar que los epitopos que han presentado la inmunidad cruzada para los flavivirus se encuentran en el dominio A, mientras que los epitopos específicos de especie o subespecie se han encontrado en los otros dominios. Además los cambios en las propiedades antigénicas de los flavivirus sugiere que este dominio es el que sufre el mayor cambio estructural cuando el pH disminuye, requerido para que el proceso de fusión inicie (Rey, et al, 1995).

La proteína E forma dímeros en la superficie del virión maduro a pH fisiológico, sin embargo su exposición a pH ligeramente ácido (6.5) e induce a un rearrreglo para formar trímeros (Figura 14). Este cambio conformacional irreversible, es crítico para la fusión viral con la membrana endosomal después de que el virión es captado por endocitosis.

En el virus de dengue los dímeros de E están tan estrechamente unidos que la membrana viral resulta inaccesible, lo que hace que la fusión sea imposible a pH neutral. Sin embargo una disminución en el pH da inicio a un cambio conformacional y a la fusión. El trímero formado expone las proteínas virales a la superficie para la interacción con la membrana (Kuhn, et al, 2002).

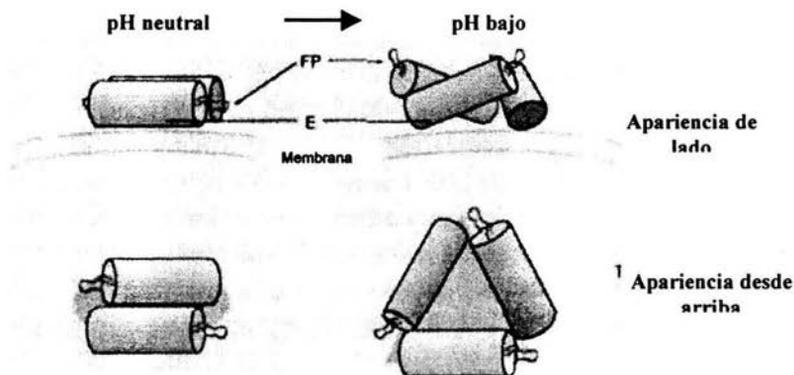


Figura 14. Cambio conformacional de la proteína E. La disminución del pH induce la formación de trímeros de la proteína E.

Proteína M. La proteína asociada a la membrana del virus (M), se encuentra en dos formas dependiendo de la maduración del virus: como proteína pre-M (prM) y proteína M. La forma pre-M es glicosilada y heterodimeriza con la proteína E, esta asociación previene a la proteína E de cambios conformacionales irreversibles prematuros en las vesículas de transporte, como la formación de trímeros. (Figura 15).

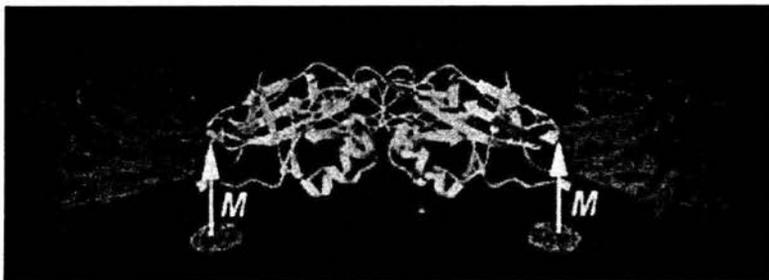


Figura 15. Proteína M asociada a la proteína E

Los virus maduros presentan una proteína de membrana madura (M), como resultado de la proteólisis de prM y la eliminación de la porción amino terminal secretada al medio extracelular. Este corte ocurre justo antes de que el virión se libere, ya que la proteína prM se han encontrado en viriones intracelulares y la M en viriones extracelulares (Figura 16).

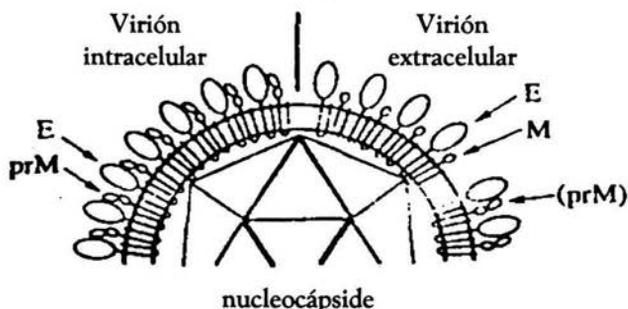


Figura 16. Estructura intracelular y extracelular de viriones de flavivirus

Proteína C. Es una proteína fuertemente básica, que forma un componente estructural de la nucleocapside, contiene cerca del 25% de lisina y arginina distribuida en toda la proteína. Forma complejos con el RNA, probablemente su carácter altamente básico actúa neutralizando algunas de las cargas del RNA formando una estructura compacta (Rice, et al, 1985).

NS1 es una glicoproteína que puede ser extracelular o estar asociada a la membrana. Induce la síntesis de anticuerpos NS1 y la forma secretada de esta proteína es llamada antígeno soluble fijador del complemento (Chambers, et al, 1990).

El estudio de la proteína viral **NS3** sugiere sea trifuncional: 1) componente de la replicación del RNA como helicasa, 2) con actividad RNA trifosfato (formación de la estructura 5' cap) y 3) con actividad proteasa para procesar la poliproteína.

NS5 es la una proteína altamente conservada, es bifuncional. Codifica para una proteína que con base en la presencia de motivos comunes con la RNA polimerasa dependiente de RNA, su función sea ser la RNA polimerasa viral. El N terminal de NS5 es homólogo con varias proteínas metiltransferasas lo que sugiere que este dominio está involucrado con la metilación del 5' cap.

NS2A es la primera de las cuatro proteínas relativamente pequeñas (24-25 KD) (proteínas hidrofóbicas: NS2A, NS2B, NS4A, NS4B), encontrada dentro de las regiones NS2 y NS4. Se sugiere que está asociada a la membrana e implicada en el procesamiento de NS1.

NS2B, NS4A, NS4B son proteínas pobremente conservadas, las cuales pueden formar parte del complejo de replicación viral y estar involucradas en la localización membranal de NS3 y NS5 vía interacción proteína-proteína (Chambers, et al, 1990).

IV.2.3. PROTEOLISIS DE LA PROTEÍNA VIRAL DE DENGUE.

El marco abierto de lectura del RNA viral del dengue codifica una proteína, la cual es escindida co y postraduccionalmente en sitios específicos por proteasas celulares y virales. La traducción de la poliproteína ocurre en asociación con el Reticulo Endoplásmico rugoso (RE), algunas regiones son translocadas dentro del lumen del RE, mientras otras se localizan en el lado citoplásmico. El mecanismo es el siguiente (17):

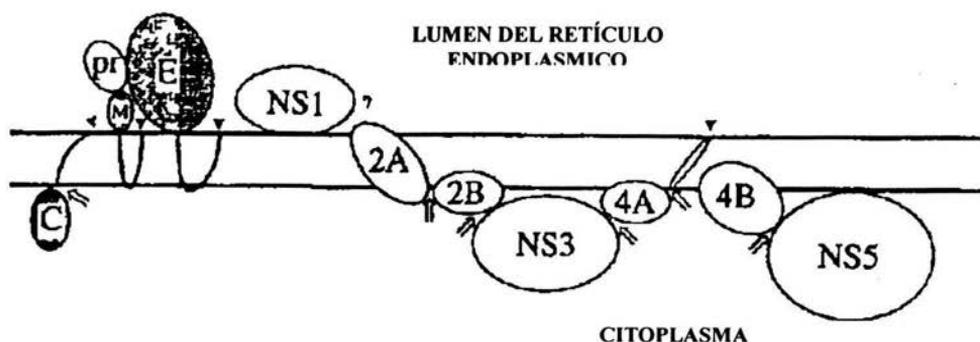


Figura 17 . Proceso proteolítico de la poliproteína de flavivirus . ▼ corte por la signalasa del hospedero, proteasa serina viral , ? proteasa desconocida responsable del corte del sitio NS1/2A

La proteína C contiene un dominio hidrofóbico en el extremo carboxi terminal que actúa como secuencia señal para la translocación de prM hacia el lumen de RE, una vez translocada prM, su extremo carboxi terminal es glucosilado. Posteriormente la prolongación hidrofóbica del carboxi terminal de prM que se encuentra interrumpida por un residuo cargado, actúa como una secuencia de paro de transferencia para prM y como señal para la translocación de la proteína E. Dos secuencias hidrofóbicas adyacentes al carboxi terminal de C de la proteína E actúan para la transferencia de E y translocación de NS1. Después de la translocación de NS1 hacia el lumen se inicia el corte del sitio E/NS1 y la glicosilación de NS1 (Markoff, 1989).

Las proteínas implicadas en el proceso proteolítico incluyen la enzima peptidasa signal o signalasa localizada en lumen del RE y es la responsable del corte C-prM, prM-E y E-NS1 y probablemente de NS4A-NS4B (Linares, et al, 1989). El sitio de corte de la signalasa típicamente ocurre en la secuencia líder o péptido señal hidrofóbico que también es el segmento blanco para la translocación de la poliproteína al RE.

La proteasa que corta secundariamente pM para convertirla a M es desconocida aunque se sabe que este proceso es llevado a cabo en el estado tardío del ensamblaje del virus en vesículas ácidas post-Golgi (Randolph, et al, 1990). La secuencia del sitio de corte es Arg-X-Arg-/Lis-Arg. (donde X es variable), y el corte puede ser mediado por una furina.

Posteriormente el corte primario de NS2A-NS2B, NS2B-NS3, NS3-NS4A y NS4B-NS5 y el corte secundario anch-C es realizado por una proteasa viral. Esta actividad proteasa requiere dos proteínas virales NS2B y NS3, las que forman un complejo. Esta proteasa viral corta la poliproteína en un sitio dibásico específico generalmente lisina-arginina o arginina-arginina (Falgout, et al, 1991).

La proteasa responsable del corte en el lumen del RE del sitio NS1/2A es desconocida, pero tanto secuencias conservadas de la región C terminal de NS1 y secuencias río abajo de NS2A son necesarias. La señalasa origina el N terminal de NS4B después de haber sido procesada por la proteasa NS2B/3.

IV.3. CICLO DE REPLICACIÓN DE LOS FLAVIVIRUS.

La unión y captación del virión a su célula blanco se logra mediante endocitosis (Figura 18), vía un receptor específico para la proteína de envoltura viral, el cual aún no ha sido bien identificado. Un pH bajo causa en la proteína de envoltura un cambio conformacional, de manera que se expone el dominio fusogénico de la proteína E y se fusiona a la membrana.

La síntesis de las proteínas virales parece estar asociada al retículo endoplásmico y rugoso y la replicación del RNA es llevada a cabo en la región perinuclear (Rice, et al, 1985). El genoma sirve de mRNA, el cual es directamente traducido en un polipéptido que es posteriormente procesado por una serie de proteasas del hospedero y virales. La síntesis de la cadena complementaria RNA negativa actúa como cadena molde para el genoma RNA cadena positiva. El RNA cadena positiva sintetizado puede ser traducido, replicado a cadena negativa o encapsidado para formar nuevos viriones.

La síntesis de RNA puede ser detectada de 3 a 6 horas después y la liberación de virus infectivo, después de 12 horas. En las células de vertebrados que han sido infectadas con el virus se observa efectos citopáticos y cambios estructurales incluyendo vacuolación, en las células de artrópodos se muestran efectos citopáticos, incluyendo la formación de sincicios (Chambers, et al, 1990).

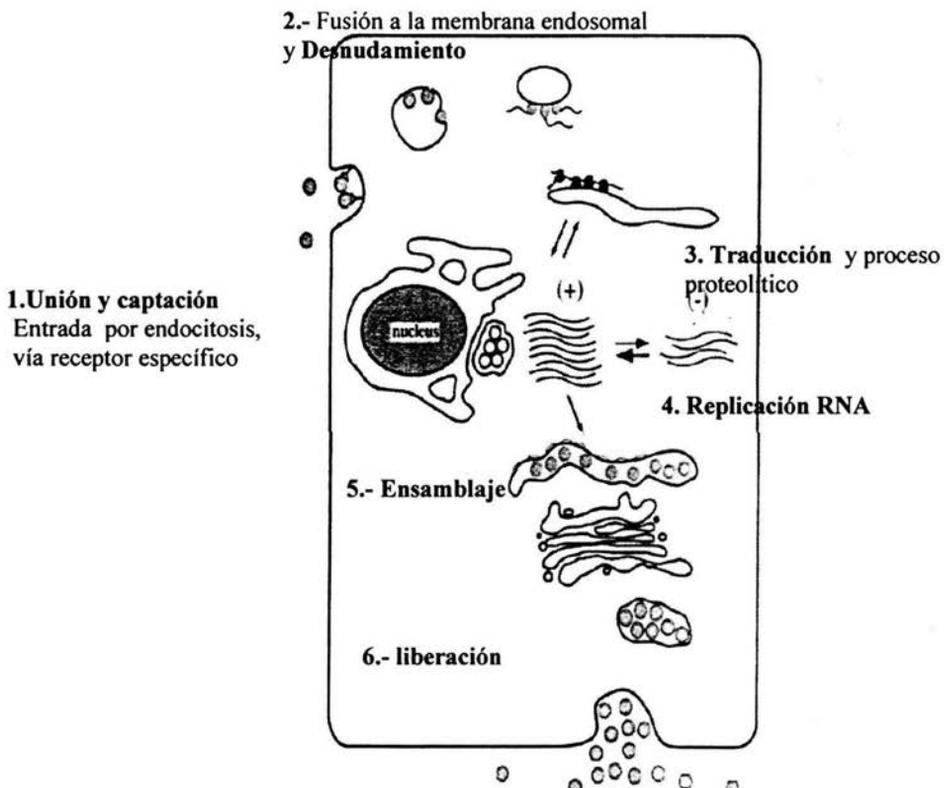


Figura 18. Ciclo de replicación de Flavivirus.

Las cadenas de RNA se asocian con la proteína C para formar la nucleocápside. El genoma encapsidado entra en el lumen del retículo endoplásmico (RE) y adquiere su envoltura, se forman partículas inmaduras que poseen las proteínas: prM, C y E.

Estas partículas pasan del RE al aparato de Golgi y entonces prM es procesada para generar la proteína Madura (prM) durante la exocitosis. Los viriones inmaduros no experimentan un cambio conformacional de la proteína E o actividad de fusión al ser transportado por los compartimientos ácidos del aparato de Golgi, debido a que la unión de E con prM previene esta activación irreversible de la proteína de envoltura (Figura 15). Los viriones son ensamblados dentro de vesículas las cuales siguen una vía secretoria, se fusionan con la membrana plasmática y liberan viriones maduros hacia el espacio extracelular.

CAPITULO V. MOSQUITO VECTOR *Aedes aegypti*

V.1. *Aedes aegypti*

El humano es el hospedero vertebrado primario de los cuatro serotipos del virus de dengue. Y el mosquito *Aedes* especialmente *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* son los principales vectores transmisores del virus de dengue ya que ambos han mostrado capacidad de adaptarse al ambiente del humano, logrando vivir hasta en la misma habitación de éste (Jelinek, 2000).

Otras especies de vertebrados generalmente no son susceptibles al virus de dengue con excepción de ratones neonatales, inoculados intracerebralmente. El mosquito resulta ser infectivo para el humano de por vida una vez que se infecta, pero es conocido que el virus de dengue únicamente causa la sintomatología en los humanos. En bosque y ciclos enzoóticos en África y Asia el virus se mantiene probablemente a través de la transmisión vertical (transovarial) en el mosquito, con un periodo de amplificación en primates no humanos. *Ae. aegypti* puede ser infectado con dos diferentes virus sin afectar el desarrollo de cualquiera de los dos virus.

Aedes aegypti



Figura 19. Mosquito *Ae. aegypti*, transmisor del virus de dengue y virus de la fiebre amarilla

Ae. aegypti es el mosquito más representativo del género *Aedes*, es un insecto pequeño blanquinegro con rayas en el dorso y las patas (Figura 19), con un tamaño de aproximadamente 5 mm. Es responsable de la transmisión de un número de patógenos humanos virales y filariosis. Transmite enfermedades virales como la Fiebre Amarilla (YF), Dengue (serotipo 1-4) y Chikungunya, las cuales pueden llegar a ser mortales, además de que *Ae. aegypti* puede transmitir parásitos filariales como son *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* y *Brugia timori*. Otros mosquitos como *Ae. albopictus*, *Ae. pseudoscutellaris* y *Ae. africanis* son también capaces de transmitir al virus de dengue y YF.

El origen de *Ae. aegypti* es el cinturón tropical de África, donde el mosquito puede ser de comportamiento doméstico y selvático. La introducción de esta especie a América fue mediante el transporte de sus huevos y larvas en contenedores de agua en barcos españoles, cerca del siglo XVI. Aunque existen varias especies de *Aedes* que transmiten el virus de dengue, *Ae. aegypti* en América es el de mayor importancia debido a que presenta un comportamiento altamente doméstico. Sin embargo en Asia *Ae. albopictus* resulta ser más doméstico que *Ae. Aegypti* (Monath, 1994).

Ae. aegypti es una especie tropical y subtropical, se encuentra distribuida entre la franja geográfica del paralelo 35° al Norte y 35° al sur y generalmente se encuentra a menos de 1,000 metros sobre el nivel del mar, aunque actualmente el cambio de clima inducido por el hombre puede causar que el vector invada altas latitudes en regiones cálidas y altas latitudes en los trópicos. Tiene un patrón de alimentación binomial, es decir, se alimenta por la mañana y por la tarde. A diferencia de la mayoría de los mosquitos, *Ae. aegypti* toma más de una comida de sangre durante un ciclo gonotópico, esto es, antes de que ovoposite (Gibbons, et al, 2002).

Ae. aegypti pertenece al orden díptera, el cual comprende la mayoría de los insectos llamados moscas y a la familia culicidae donde están todos los mosquitos, suborden nematocera, familia culicidae y subfamilia Culicinae (Tabla 3).

Orden	Díptera
Suborden	Nematocera
Familia	Culicidae
Subfamilia	Culicinae
Tribus	Culicini
Género	<i>Aedes</i>
Subgénero	<i>Stegomyia</i>
Especie	<i>aegypti</i>

Tabla 3. Clasificación sistemática de *Aedes aegypti*. Fernández 1999

Ae. aegypti actualmente es considerado como una especie de gran importancia en la salud pública a causa de su gran expansión a nivel mundial. Las hembras llegan a ovopositar de 20 a 120 huevecillos y viviendo en condiciones adversas puede tener de 3 a 5 ovoposiciones cada 3-5 días y generalmente la mayoría distribuye sus huevecillos hasta en 3 criaderos diferentes, ampliando su distribución.

Las hembras rechazan el agua con un exceso de materia de desecho, tienen preferencia por agua limpia. Una vez depositados los huevos, si el medio se encuentra lleno de agua y los humedece requiere de 48 horas para eclosionar de lo contrario permanecen deshidratados por días, meses, semanas y permanecer viables hasta por aproximadamente dos años. Por lo tanto, materiales de desecho como llantas, latas, tambos, etc., son reservorio de huevecillos y al llegar las épocas de lluvia se llenan de larvas dando origen a un sin número de mosquitos (Fernández, 1999).

V.2. CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de *Aedes aegypti* resulta ser complejo, debido a que lo largo de su vida esta especie tiene cambios morfológicos que le permiten vivir en el agua para después adquirir otra morfología que le permitirá desplazarse en el aire. Las fases de su ciclo de vida son 4: huevos, larva (con 4 mudas con sus 4 estadios respectivos), pupa y adulto hembra o macho (Figura 20).

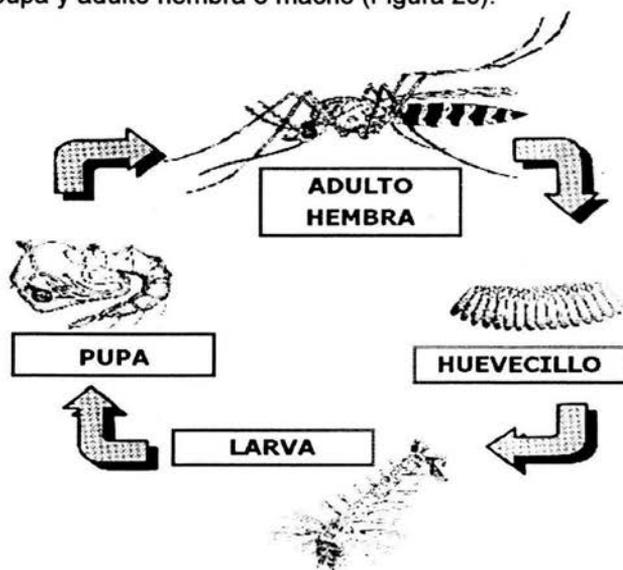


Figura 20. Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti*: Huevecillo, Larva, Pupa y Mosquito adulto.

Después de la eclosión del huevo el crecimiento de la larva dependerá de la temperatura del medio y de la alimentación; una temperatura arriba de 25° C es favorable para el rápido crecimiento, mientras en climas fríos como en invierno se requieren hasta 15 días para llegar a adulto.

La larva secreta una cubierta por todo su cuerpo que acaba por encerrarla, pasando así al estado pupal; en el estado pupal, se llevan a cabo cambios en su cuerpo que le permitirán la invasión del ambiente aéreo. Durante un tiempo de 24 a 48 horas se desarrolla el tórax, tres pares de patas, aparato bucal para picar, ovarios, glándulas salivales y enzimas apropiadas para degradar su futuro alimento sanguíneo.

Posteriormente el mosquito emerge de la pupa, ocurre temprano por la mañana o en el crepúsculo y en un menos de una hora hace su primer vuelo. El macho posee ciertas características que lo diferencian de la hembra como son unas antenas plumosas las cuales son receptoras de los sonidos que emiten las hembras, para así dirigirse hacia su ubicación y aparearse.



Figura 21. *Aedes aegypti* alimentándose

Ae. aegypti posee en su probosis un nervio muy susceptible (Figura 21), cuando se está alimentando tiene la capacidad de que al más mínimo movimiento de la persona fácilmente interrumpe la alimentación y se retira; para que después de un lapso de tiempo regrese a picar a la misma o diferente persona, este comportamiento es de gran importancia pues se ha llegado a observar que en ocasiones todos los individuos de una sola casa se enferman, sugiriendo que todos podían haber sido picados por el mismo mosquito (Putnam, Scott, 1995).

V. 3. CICLO DE TRASMISIÓN DEL VIRUS DE DENGUE

El ciclo de transmisión del virus de dengue por el mosquito *Ae. aegypti* comienza con una persona infectada con el virus de dengue. Esta persona tendrá el virus circulando en la sangre, una viremia que dura aproximadamente cinco días. Durante el período virémico, un mosquito *Ae. aegypti* hembra pica a la persona e ingiere sangre que contiene el virus de dengue (Figura 22). Si bien, existe alguna evidencia de la transmisión transovárica del virus de dengue en *Ae. aegypti*, por lo general los mosquitos sólo son infectados cuando pican a una persona virémica (Monath, 1994).

Posteriormente, el virus se replica durante un período de incubación extrínseca dentro del mosquito, que se refiere al tiempo que va desde que el mosquito pica al humano virémico hasta cuando el mosquito por si mismo llega a ser infectivo y dura de ocho a doce días. Después, el mosquito pica a otra persona susceptible y le transmite el virus, así como a cualquier otra persona susceptible que el mosquito pique durante el resto de su vida.

El virus se replica en la segunda persona y produce los síntomas, los cuales comienzan a aparecer en un promedio de cuatro a siete días después de la picadura de mosquito, éste tiempo es llamado período de incubación intrínseca. Aunque el promedio de duración del período de incubación intrínseca es de cuatro a siete días, puede durar de 3 a 14 días (McBride, et al, 2000).

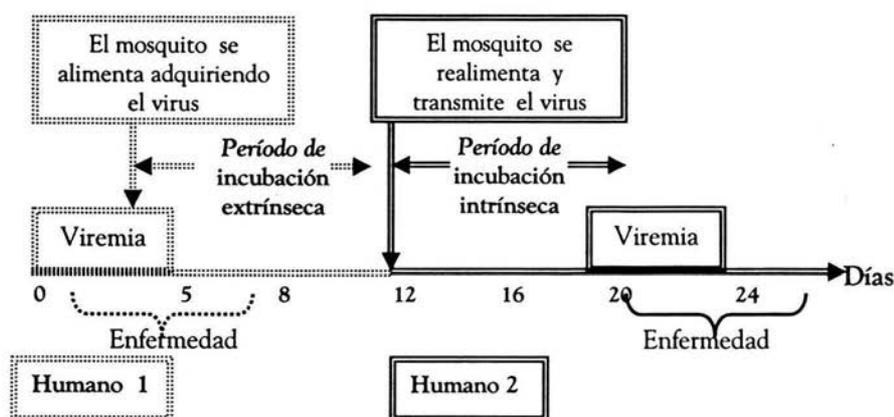
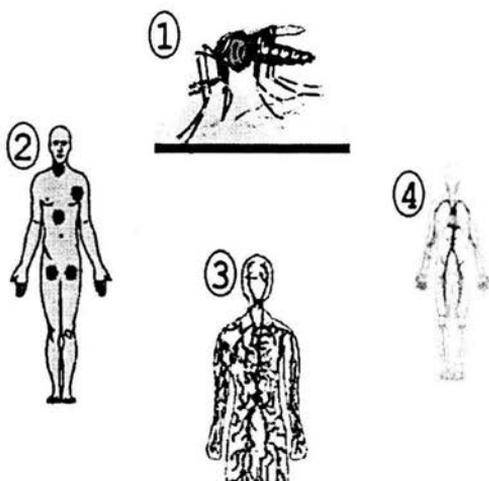


Figura 22. Ciclo de transmisión del virus de Dengue.

La viremia inicia poco antes de la aparición de los síntomas. Los síntomas causados por la infección por dengue pueden durar de 3 a 10 días, con un promedio de 5 días, la enfermedad persiste durante varios días después de haber concluido la viremia.

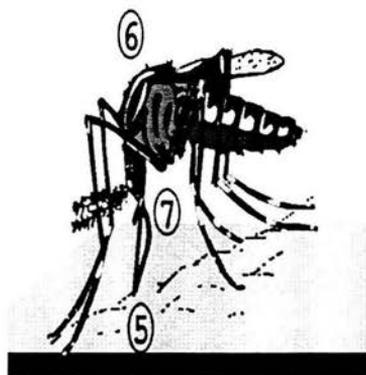
La persistencia del virus de dengue, depende del desarrollo de altos títulos virales en el hospedero para que asegure la transmisión del virus al mosquito. Esta relación vector/virus puede ser el principal factor de la selección de la patogenia y la propagación de cepas de dengue en la zona urbana (MacBride, et al, 2000).

V.3.1. PASOS DEL CICLO DE TRANSMISIÓN DEL VIRUS DE DENGUE



1. El virus es inoculado en los seres humanos con la saliva del mosquito.
2. El virus se localiza y se replica en diversos órganos diana, por ejemplo: nódulos linfáticos locales e hígado.
3. El virus se libera luego de estos tejidos y se difunde por la sangre para infectar los leucocitos y otros tejidos linfáticos.
4. El virus se libera luego de estos tejidos y circula en la sangre.

Los siguientes eventos representan la parte del ciclo de transmisión que tiene lugar dentro del mosquito.



5. El mosquito ingiere sangre que contiene el virus.
6. El virus se replica en la zona embrionaria del tubo digestivo del mosquito, los ovarios, el tejido nervioso y el cuerpo graso. Se difunde luego en la cavidad corporal y posteriormente infecta las glándulas salivales.
7. El virus se replica en las glándulas salivales y cuando el mosquito pica a otro ser humano, el ciclo continúa.

Figura 23. Pasos del ciclo de transmisión del virus de dengue

Fuente: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/slideset/spanish/set1/i/slide05.htm>

V.4. COMPETENCIA VECTORIAL

La **Competencia del vector** se refiere a la capacidad intrínseca que posee el mosquito para ser infectado por el virus, permitir su replicación y transmisión del virus. Y un vector competente es aquel que es susceptible a la infección de un patógeno, replicación, diseminación a órganos blancos y eficientemente transmite al patógeno. Cuando el mosquito *Ae. aegypti* se alimenta de sangre con el virus, éste se encuentra con que tiene que atravesar varias barreras que le permitan infectar a su hospedero (Figura 24).

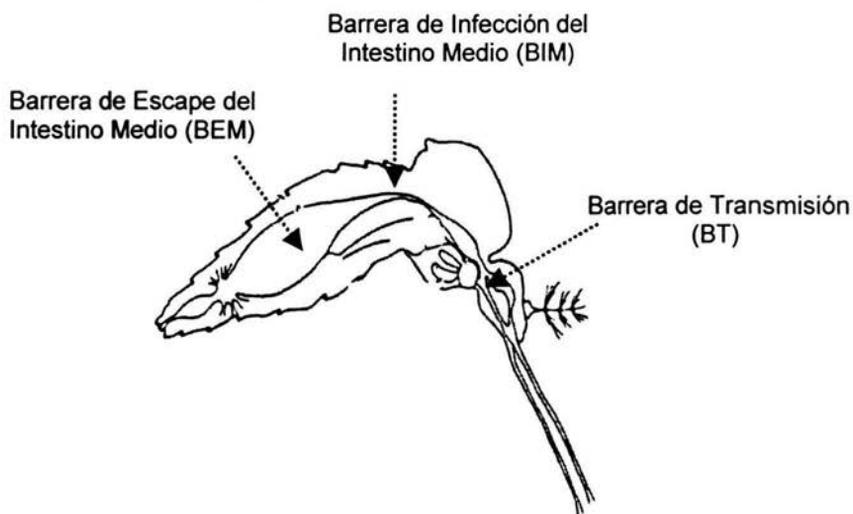


Figura 24. Barreras de defensa del mosquito vector. (Black, 2002).

Una vez que el mosquito se alimenta con sangre infectada, se esperaría que el virus infectara las células epiteliales del intestino medio, debido probablemente a la interacción con un receptor específico presente en estas células, penetrara, y comenzara a multiplicarse, para después diseminarse del epitelio a los órganos blancos secundarios.

Sin embargo, si el virus es bloqueado en el estado temprano de la infección del intestino medio como por ejemplo en unión al receptor, inhibición de la transcripción, entre otros mecanismos, se considera que posee una Barrera de Infección en el Intestino medio (BIM) y si el virus no se disemina a órganos secundarios pero infecta el intestino medio se considera que posee una Barrera de Escape del intestino medio (BEM). La BEM esta asociada con la ineficiencia del virión a ensamblarse o madurar en las células del intestino medio o a la incapacidad del virión a escapar de las células epiteliales del intestino medio, pasar a través de la lamina basal e infectar órganos secundarios (Black, et. al., 2002).

En el vector, después de la ingestión de sangre con el virus, se infectan las células epiteliales de las paredes del intestino medio. El virus escapa de las células epiteliales del intestino medio hacia órganos blanco secundarios e infecta las glándulas salivales. Finalmente, el virus es secretado en la saliva, transmitiéndolo durante la picadura a otro individuo. El tracto genital también es infectado por lo que el virus pueden infectar los huevecillos lo que se conoce como transmisión vertical del virus de dengue. Se sabe que existen mecanismos que condicionan la incompetencia de un vector en una población, por lo cual es necesario determinar cuales son para que en un futuro puedan ser manipulados, de tal manera que se pueda interrumpir y controlar el ciclo de transmisión del patógeno. Por ejemplo, lograr la manipulación genética del vector, generando especies transgénicas resistentes a la infección con el virus donde las moléculas efectoras han sido identificadas y expresadas de manera que se podría generar un fenotipo anti-patógeno en el vector (Barry, 2000).

CAPITULO VI. DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO

El dengue es uno de los mayores problemas de salud que enfrentan muchos países de América y entre ellos México, situación que cada día empeora, por lo cual es importante que los países en riesgo actúen para resolver el problema. Una manera de actuar es conociendo las metodologías que se utiliza para el diagnóstico de la enfermedad, saber cuándo y cuál emplear, de esa forma se mejora la calidad de los resultados y se da respuesta oportuna ante una situación emergente. Las nuevas tecnologías deben ser adquiridas de forma rápida y en conjunto, para lo cual es necesario la capacitación constante de la gente responsable del laboratorio de diagnóstico.

El dengue es una enfermedad que puede ser fácilmente confundida con otra de tipo viral, no posee característica clínica patognomónica que lo haga debidamente identificable, razón por la cual se requiere del apoyo de técnicas de laboratorio para su efectivo diagnóstico y que por lo tanto en todos los casos en los que se sospeche de dengue debe tomarse una muestra sanguínea del paciente para confirmar el cuadro y el serotipo responsable, si es posible. Identificar el serotipo circulante en la región, su introducción temprana, diseminación geográfica y poblacional, trae como ventaja el conocimiento de la dinámica de la transmisión y los factores de riesgo asociados a la aparición de las formas severas del dengue (Zarate, et al, 1995).

VI.1. TOMA DE MUESTRA

El tipo de estudio realizado a la muestra sanguínea varia de acuerdo con el momento del cuadro clínico. Si se requiere identificar el serotipo viral circulante, es necesario coleccionar el suero de un paciente que se encuentre durante la fase aguda de la enfermedad, es decir en la fase virémica la cual es durante el día primero al quinto. Mientras que para el diagnóstico serológico la muestra se toma después del sexto día de haber iniciado la fiebre. La muestra se toma en condiciones de esterilidad, con material desechable y sin anticoagulante, a partir de la cual se extrae el suero sin hemólisis y es pasado a un tubo estéril el cual debe estar debidamente etiquetada con el nombre, edad, sexo y se envía con un resumen de la historia clínica que incluya la fecha de inicio del cuadro clínico, fecha de la toma de muestra, para que se defina el tipo de estudio a realizar.

Debe enviarse en cadena fría al laboratorio lo más pronto posible, el traslado que dure más de 48 horas no garantiza una calidad en los resultados. El éxito de los estudios serológicos y virológicos de dengue depende en mucho de la calidad de las muestras, el momento de evolución del cuadro clínico y el manejo de los especímenes hasta su llegada al laboratorio.

VI.2 DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO

El virus de dengue se puede identificar mediante:

- **Su aislamiento**, ya sea por medio de su cultivo en líneas celulares o inoculando el suero en ratones lactantes. Emplear ratones lactantes es caro y con una técnica laboriosa, además de que requiere una constante observación de los animales inoculados, pues la infección en un ratón puede pasar inadvertida; después de inocular por vía intracraneal a los ratones lactantes, la muerte se presenta alrededor del quinto día y la tipificación del aislamiento se hace por fijación del complemento (FC) o por inmunofluorescencia indirecta (IFI) usando anticuerpos monoclonales. Debido a los costos y a la experiencia necesaria para estas pruebas son pocos los laboratorios que la realizan.

La inoculación de suero en líneas celulares de mosquitos como las originadas de *Aedes albopictus* (C6/36) o *Aedes pseudoscutellaris* (AP61), células de riñones de hámster sirios recién nacido (BHK 21) es el método comúnmente utilizado para el aislamiento. Sin embargo, la inoculación de muestras directamente en mosquitos, específicamente en larvas o adultos de mosquitos *Toxorhynchites amboinensis* o *Toxorhynchites splendens* es el mejor método de aislamiento en términos de sensibilidad, desafortunadamente este último método no está disponible en muchos países endémicos.

Por lo tanto en un diagnóstico de rutina la línea C6/36 es la más ampliamente usada; de 7 a 10 días después de la inoculación del virus en la línea se puede hacer la identificación del virus, además no requieren grandes espacios como los ratones y son relativamente fáciles de manejar. Los antígenos virales presentes en la superficie celular o dentro de la célula pueden ser detectados por inmunofluorescencia directa, indirecta y por ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) (Guzmán, et al, 2002).

- **Por detección de componentes virales** ya sean proteína y/o ácido nucleicos.

En la detección del virus y antígenos virales como proteínas en muestras clínica o cultivos celulares se utilizan anticuerpos monoclonales, los cuales son una herramienta sensible y específica. Los antígenos virales presentes en la superficie celular o dentro de la célula pueden ser detectados por inmunofluorescencia directa o indirecta y por ensayos inmunoenzimáticos. La detección de las secuencias de RNA viral se realiza mediante la técnica de RT-PCR.

VI.2.1 RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcripción Reversa)

Es un método de diagnóstico molecular del dengue; un rápido ensayo que permite la detección de virus en sueros, empleando iniciadores específicos que nos permiten incluso identificar los diferentes serotipos del virus del dengue. Es una de las técnicas más modernas con amplio espectro de aplicación y puede convertirse en la más empleada en el diagnóstico molecular de las infecciones por dengue.

El RT-PCR es un método "in vitro" que usa la síntesis enzimática para obtener DNA complementario (cDNA) del RNA viral por medio de una transcripción reversa y a partir de ese cDNA replicar selectivamente una región diana empleando la reacción en cadena de la polimerasa.

El principio fundamental de PCR es la amplificación de un fragmento específico de DNA por medio de ciclos sucesivos de multiplicación exponencial hasta llegar a obtener una cantidad adecuada del producto. De esta manera, a partir de una sola molécula se puede generar más de un millón de copias de sí misma luego de ciclos de replicación exponencial.

Técnicamente está comprendida de los siguientes pasos:

VI.2.2 TRASCRIPCIÓN REVERSA (RT)

En el procedimiento de transcripción reversa, se realiza una extracción del RNA viral y la adición de una DNA polimerasa dependiente de RNA: la enzima transcriptasa inversa además de un iniciador para sintetizar Primero la cadena complementario de DNA cDNA a partir del templado de ARN (Figura 25).

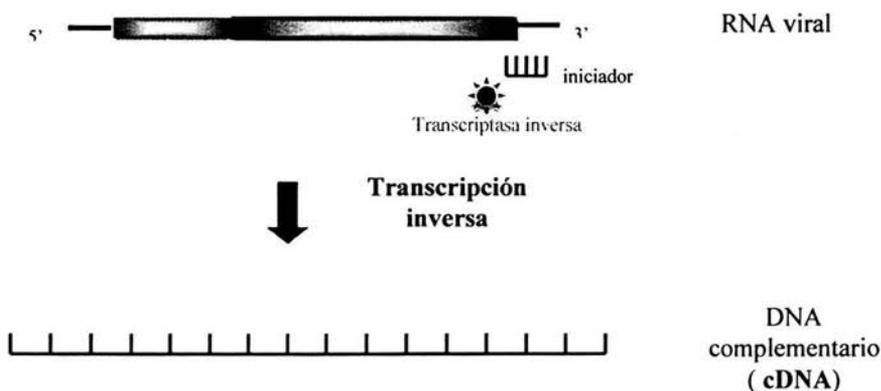


Figura 25. Transcripción reversa de RNA viral

VI.2.3 PROCEDIMIENTO PCR

Una vez sintetizado el cDNA, se lleva a cabo la reacción en cadena de la polimerasa, para multiplicar la región de DNA, la cual es posteriormente identificada y que nos permitirá saber si está o no presente el virus en la muestra (Figura 26). Y esta reacción emplea los siguientes pasos:

& **Desnaturalización:**

La desnaturalización comprende la descomposición del DNA de doble cadena en cadenas sencillas, con el fin de que los iniciadores (secuencias específicas complementarias que se añaden a la reacción) puedan encontrar la secuencia específica para unirse e iniciar la acción de la polimerasa. Generalmente se realiza a una temperatura entre los 94 °C y 96°C por un tiempo aproximado de 0.5 a 2 minutos.

& **Hibridación:**

Desnaturalizado el DNA los iniciadores proceden a unirse a la secuencia para la cual fueron diseñados, esto ocurre en ambas cadenas delimitando la secuencia de DNA blanco a ser amplificado. Esto se realiza a una temperatura comprendida entre los 50 °C y 60 °C por un tiempo aproximado de 0.5 a 2 minutos, para permitir que los iniciadores se unan a las secuencias blanco.

& **Elongación o Extensión:**

Después que los iniciadores se han hibridado ocurre el proceso de extensión en el cual la protagonista es la enzima DNA polimerasa que lleva a cabo la síntesis del nuevo DNA que va de un cebador hacia el otro en la dirección de 5' a 3'. Este proceso se lleva a cabo a una temperatura de 72 °C por un tiempo de 2 minutos.

De esta manera después de varios ciclos el producto predominante de la reacción será aquella pieza de DNA la cual está flanqueada por los iniciadores. Los ciclos de desnaturalización, hibridación y elongación pueden ser repetidos y los fragmentos de DNA producidos continuarán acumulándose exponencialmente hasta que los productos de la reacción estén agotados o que la enzima sea incapaz de sintetizar bastante DNA con rapidez.

El uso de iniciadores que hibridizan secuencias específicas en el genoma de cada uno de los serotipos, genera productos de diferente tamaño para cada serotipo, lo cual permite distinguirlo fácilmente por medio de la técnica de electroforesis (Figura 27).

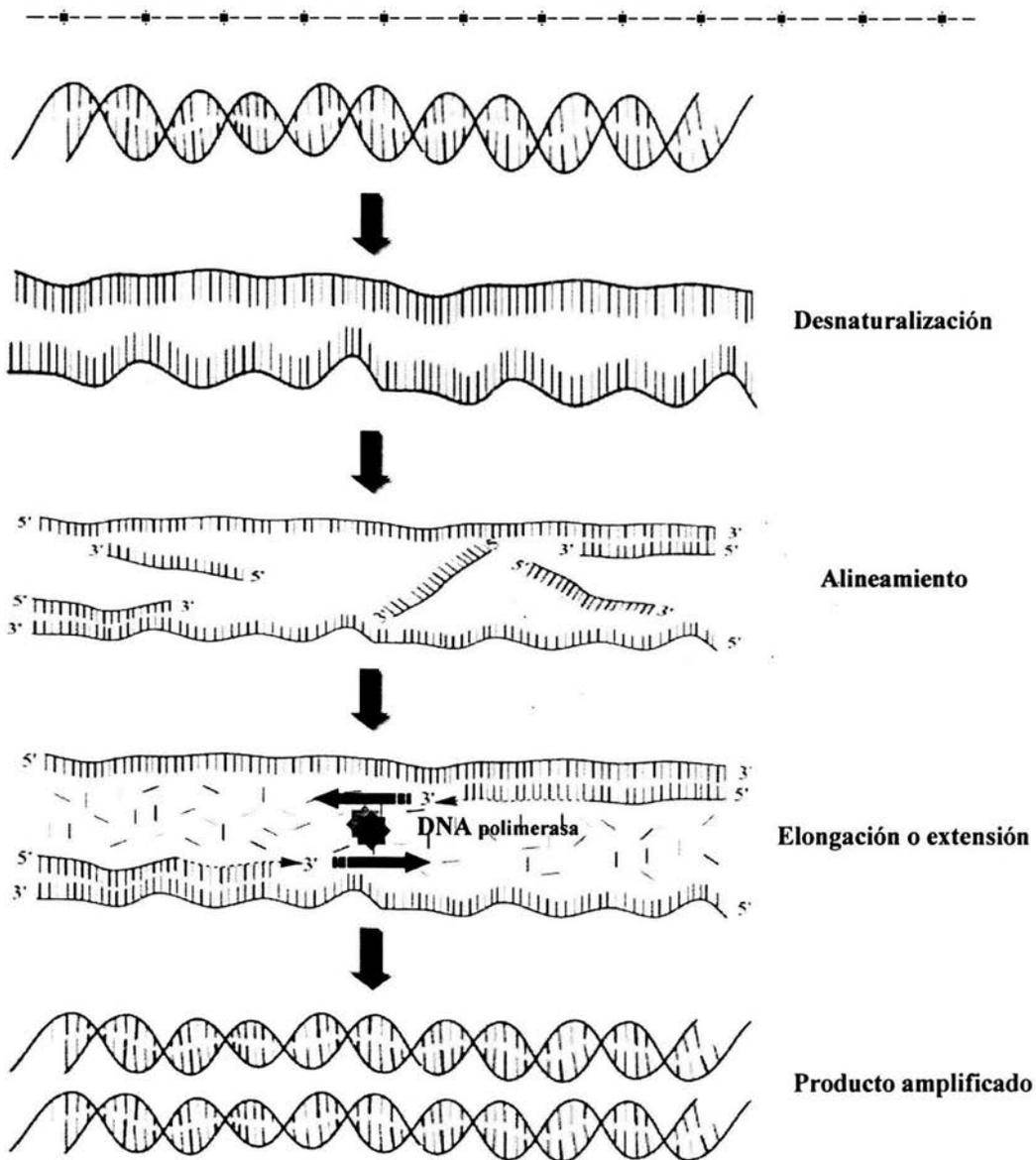


Figura 26. Reacción en Cadena de la Polimerasa

La técnica de RT-PCR ha sido empleada para el diagnóstico de dengue en suero, tejido de casos fatales, mosquitos, líneas celulares infectadas y larvas de mosquito; vigilancia molecular y caracterización genética de cepas. El RT-PCR combinado con secuenciación nucleotídica es una poderosa arma para la caracterización de cepas; la estructura del genoma y su secuencia genética son las principales características distintivas de la familia, tipo y cepas del virus.

Los estudios de secuenciación nucleotídica han permitido la clasificación del virus dentro de diferentes genotipos. Por ejemplo DEN-4 ha sido clasificado en dos genotipos mediante un estudio completo del gen de la proteína E de 19 cepas virales. Esto es importante debido a la existencia directa de una correlación entre viremia, severidad de la enfermedad y lo drástico de la transmisión epidémica con la cepa viral circulante.

Tres versiones de RT-PCR han sido desarrolladas, en la primera llamada Nested PCR (Lanciotti, et al, 1992), está compuesta por dos PCR, en el primero se amplifica una región amplia, conservada que está presente en los cuatro el virus de dengue y en el segundo se amplifican regiones específicas para cada serotipo, en la segunda versión de RT-PCR se amplifica parte de la región no estructural del virus, NS3 (Seah, et al, 1995) y en la tercera versión se amplifican segmentos de la región de la cápside viral (Harris, et al, 1998),

RT-PCR. (Lanciotti, et al, 1992)

Es un ensayo basado en el RT-PCR, rápido, sensible y específico para tipificar el virus de dengue. El RT y PCR son llevadas a cabo en un solo tubo de reacción para hacerlo más simple y disminuir el riesgo de contaminación con otras muestras.

La secuencia de los iniciadores empleados son los siguientes

D1: 5'- TCA ATA TGC TGA AAC GCG CGA GAA ACC G
TS1: 5'- CGT CTC AGT TGA TCC GGC GG
TS2: 5'- CGC CAC AAG GGC CAT GAA CAG
TS3: 5'- TAA CAT CAT CAT GAG ACA GAG C
DEN 4: 5'-TGT TGT CTT AAA CAA GAG AGG TC

Programa de amplificación:

42° C 1 hora	1 ciclo	Reversotranscripción
94° C 30 seg	35 ciclos	Desnaturalización
55° C 1 min	35 ciclos	Hibridación
72° C 2 min	35 ciclos	Extensión
72° C 5 min	1 ciclo	Extensión final

Tamaño de los productos obtenidos:

Serotipo identificado	No.de pb. amplificadas	Iniciadores empleados
Dengue 1	482	D1 - TS1
Dengue 2	119	D1 - TS2
Dengue 3	290	D1 - TS3
Dengue 4	392	D1 - D4

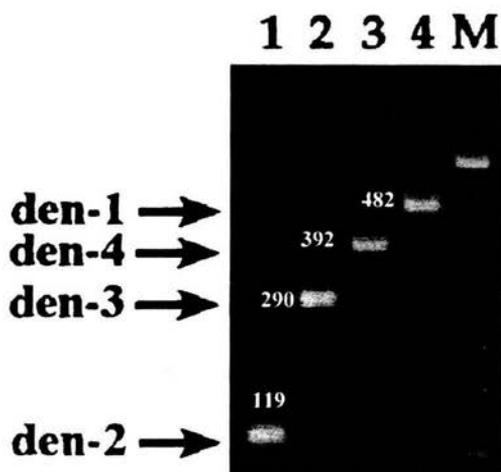


Figura 27. RT-PCR para la detección y tipificación del virus de Dengue.
carril 1, Dengue 2 (den2); carril 2, Dengue 3 (den3); carril 3, Dengue 4 (den 4); carril 4, Dengue 1 (den 1); carril M, marcador de 100 pb. (Lanciotti, 1992)

Una muestra positiva es aquella donde se logra amplificar un fragmento de cDNA con el tamaño esperado (Figura 27). Un caso positivo por RT- PCR de dengue es un caso confirmado de dengue.

VI.3. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

El diagnóstico serológico es comúnmente empleado en las infecciones con dengue, para la confirmación de los casos, evaluar el curso de una infección y determinar si una infección es primaria o secundaria

En la infección primaria con dengue se caracteriza por un aumento de IgM a los 3-5 días después del comienzo de la infección y es generalmente detectable de 30 a 90 días. Los niveles de anticuerpos tipo IgG aumentan después de 7 a 10 días y son detectables de por vida.

Durante una infección secundaria están presentes altos niveles de IgG, aún durante la fase aguda de la enfermedad, aumentando considerablemente en las próximas dos semanas. Los niveles de IgM son menores y en algunos casos están ausentes en la infección secundaria. La respuesta IgM en la infección secundaria puede ser lenta, débil y de corta vida y en algunos pacientes no se presentan niveles de IgM detectables. En contraste, los niveles de IgG aumentan rápidamente a altos niveles que los observados en la infección primaria y permanecen con estos niveles hasta por 30-40 días. La detección de IgM y IgG es propuesta como una efectiva estrategia para el diagnóstico serológico de una infección con el virus de dengue. La IgM es el marcador de elección en el diagnóstico de dengue, pero en algunos pacientes con infección secundaria se producen bajos niveles o niveles no detectables (Cuzzubbo, et al, 2000).

La infección secundaria se identifica por la elevación cuádruple o mayor de los niveles de anticuerpos entre dos muestras de sueros obtenidos con un mínimo de dos semanas entre una y la otra toma. Existen diferentes métodos para detectar tanto anticuerpos IgM e IgG, como ELISA, Inmunofluorescencia indirecta (IFI), la Neutralización (NT), la Inhibición de la Hemaglutinación (IH), y Fijación del Complemento (FC).

VI.3.1 ELISA

ELISA es la técnica más ampliamente usada en la práctica rutinaria y **es utilizada para la detección tanto de IgM como IgG**. La sensibilidad de ELISA IgM se sitúa de 90 a 97 % comparado con la prueba de inhibición de la hemaglutinación y las reacciones falsa positivas son de menos del 2% de los casos (Guzmán, et al, 2002).

La técnica de **ELISA de captura de IgM** es el procedimiento serológico más ampliamente usado y disponible (Figura 28). Básicamente consta de unas tiras sensibilizadas con una Inmunoglobulina de carnero anti-IgM humana, la cual reaccionará con los anticuerpos de clase IgM presentes en la muestra del paciente. Al adicionar el antígeno del virus de dengue este interactúa con las Inmunoglobulinas M capturadas previamente, sólo si estas son específicas para el virus de dengue. Posteriormente se adiciona un conjugado, formado por inmunoglobulinas anti-virus de dengue acopladas a la enzima peroxidasa del rábano. Si las reacciones previas han sido específicas, el conjugado reaccionará con el antígeno del virus de dengue. Cuando se adiciona el sustrato este es degradado por la enzima peroxidasa traduciéndose en un cambio de color en la reacción en las muestras positivas.

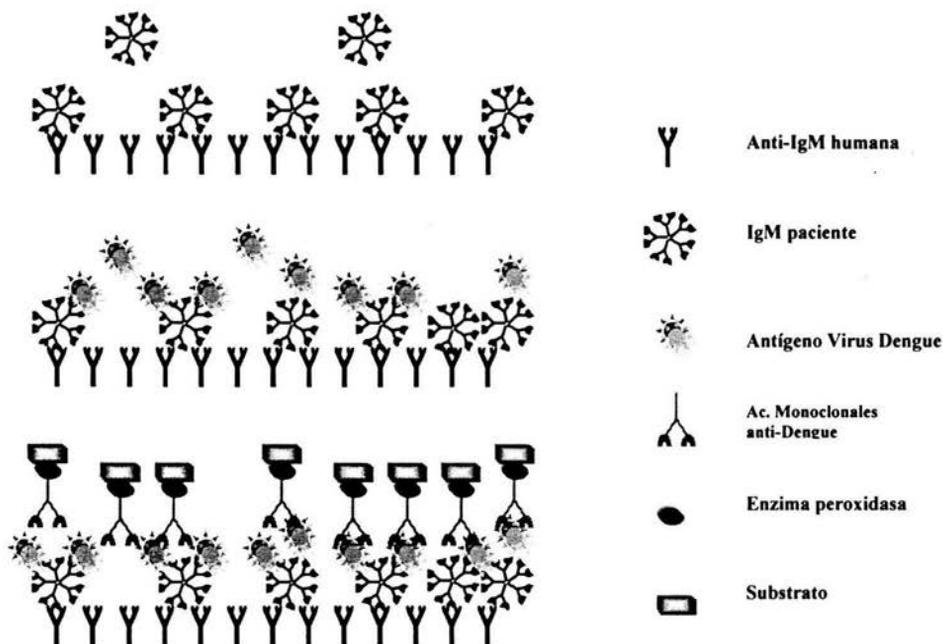


Figura 28. ELISA de captura de IgM.

La detección de IgM específica contra el virus de dengue es un método rápido, sencillo y económico, que tiene una elevada sensibilidad y especificidad, por lo que constituye el sistema de elección para la vigilancia seroepidemiológica del dengue. Los resultados de esta técnica deben interpretarse con cuidado, porque dependen en gran medida del momento en que se tome la muestra y del tipo infección (primaria o secundaria) que presente la persona afectadas.

La presencia de IgM específica contra el virus de dengue en una de muestra de suero significa que esta persona se ha infectado recientemente con este virus. Una muestra tomada antes del 7o día de iniciados los síntomas puede resultar negativa. En este caso debe tomarse una segunda muestra o auxiliarse de otro método diagnóstico. En las infecciones secundarias o terciarias la IgM puede presentarse en un porcentaje bajo, en ese caso se puede auxiliar de otros métodos serológicos que determinen fundamentalmente IgG. Como control de calidad del ensayo deben incluirse 3 controles negativos y 2 controles positivos, un positivo alto y un positivo bajo. Periódicamente un panel de sueros conocidos (aproximadamente de 20 muestras) debe procesarse para evaluar el comportamiento de la técnica.

También por técnica de ELISA indirecta se puede hacer la **determinación de anticuerpos IgG**. Un paciente con una muestra tomada en período convaleciente (7 o más días después de iniciado los síntomas) con un título positivo de IgG se considera un caso secundario de dengue.

VI.3.2. INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN.

Se usa por la capacidad que tiene algunos virus de poseer glicoproteínas en sus superficies capaces de aglutinar a eritrocitos de ciertas especies, como en el virus de dengue la proteína E aglutina a eritrocitos de ganso y humanos del grupo O. Los anticuerpos presentes en el suero del enfermo van a evitar que una cantidad estandarizada de virus se una a los eritrocitos y los aglutinen. Cuantifica anticuerpos totales en muestras pareadas (dos muestras de sueros obtenidos con un mínimo de dos semanas entre una y la otra toma).

Procedimiento

Para llevar a cabo el procedimiento se necesitan células de la sangre de ganso que se lavan 3 veces con solución salina o PBS a 1000 rpm por 10 minutos a 4° C. Y se almacena a 4° C hasta su uso. Para la técnica preparar una solución al 0.5%.

- 3 Se rotulan placas de poliestireno de fondo en U con el número de los sueros a probar y el antígeno a utilizar (serotipo viral preparados por el método sacarosa acetona). Los sueros son probados utilizando diluciones desde 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640, 1/1280, 1/2560, 1/5120, 1/10240, 1/20480.
- 3 Añadir 0.025 ml de BSA al 4% en buffer Borato Salina (BABS), pH 9 a cada pozuelo
- 3 Adicionar 0.025 ml del suero a titular en el primer pozo de cada columna.
- 3 Realizar las diluciones de los sueros
- 3 Añadir a cada pozo 0.025ml del antígeno.
- 3 Agitar y mantener en reposo a temperatura ambiente durante 45 minutos.
- 3 Adicionar 0.05 ml de glóbulos rojos diluidos al 0.5%.
- 3 Agitar y dejar reposar a temperatura ambiente. Durante 30 minutos.

Interpretación de los resultados

El título de un suero es considerado como la última dilución donde se inhibe la hemaglutinación. Un paciente en periodo convaleciente (7 o más días después de iniciado los síntomas) que presente títulos de anticuerpos por IHA igual o mayor que 1280 se considera un caso probable de dengue con un título igual o mayor a 2560 se considera como un caso secundario de dengue (Tabla 4).

Como control de calidad en cada ensayo se debe utilizar:

- ξ Control de glóbulos rojos de ganso: sólo contiene BABS y glóbulos rojos lo cual permite detectar aglutinación inespecífica
- ξ Control de sueros positivo
- ξ Control de suero negativo
- ξ Control de célula para cada suero: contiene una dilución baja de suero (1:10 ó 1:20) y glóbulos rojos de ganso. Permite detectar aglutinación inespecífica.
- ξ Control de las unidades hemaglutinante del antígeno.

Relación entre títulos del 1er. Y 2do. Suero	Intervalo entre el 1er. Y 2do. Suero	Título suero convaleciente	Interpretación
Más o igual a 4	Más o igual a 7 días	Menos o igual a 1/1280	Infección primaria
Más o igual a 4	Más o igual a 7 días	Más o igual a 1/2560	Infección secundaria
Más o igual a 4	Menos de 7 días	Menos o igual 1/1280	Infección secundaria o primaria
Sin cambio	Más o igual a 7 días	Más o igual a 1/2560	Presunta infección secundaria
Sin cambio	Más o igual a 7 días	Menos de 1/1280	No-dengue
Sin cambio	Menos de 7 días	Menos o igual a 1/1280	Sin interpretación
	Solo una muestra	Menos de 1/1280	Sin interpretación
		Igual a 1/1280	Caso probable

Tabla 4. Interpretación de los títulos obtenidos por IH para dengue

CAPITULO VIII. EVOLUCIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA DE LOS SEROTIPOS DEL VIRUS DENGUE

En 1947, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) inicia campañas alrededor del mundo para erradicar *Ae. aegypti*, sobre todo en la lucha contra la fiebre amarilla. Los esfuerzos fueron exitosos, entre 1947 y 1972 el vector había sido eliminado de 19 países, representando el 73% de las áreas originalmente infestadas (Figura 29) (Monath, 1994). Sin embargo el discontinuar los programas de control llevaron al resurgimiento del vector y actualmente *Ae. aegypti* se encuentra bien establecido en varias áreas de América excepto en Canadá. El efecto de este resurgimiento se manifestó con un aumento en los últimos años de casos de dengue en América (Lancet, 1997).

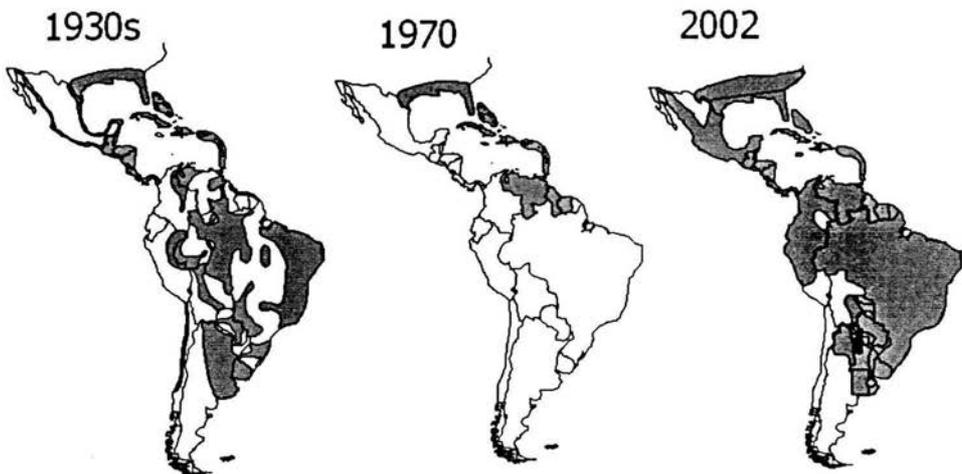


Figura 29. Reinfestación del mosquito vector *Ae. aegypti*. Los programas de control lograron ser efectivos, el discontinuarlos trajo consigo la reinfestación del vector.

El comportamiento del dengue a través del tiempo ha sido muy variable, lo más señalado es el constante aumento de epidemias de dengue hemorrágico, por lo cual es indispensable para el control del virus de dengue determinar cuál es el origen de las cepas virales que están asociadas con la forma severa de la enfermedad. Al mismo tiempo el análisis de la distribución de los serotipos del dengue en el mundo permite identificar patrones epidemiológicos bien definidos.

El análisis de la evolución de los serotipos dengue 1 – 4 se realiza comparando la secuencia nucleotídica de los serotipos virales. Al analizar la variación que existe en secuencias de varios virus de un mismo serotipo, ha permitido que en un mismo serotipo, los virus sean clasificados dentro de grupos genéticamente diferentes llamados genotipos; mientras que de acuerdo a su lugar de aparición de las cepas virales, se han llamado tototipos.

Esta variación en un mismo serotipo explica la evolución genética que han tenido y que ha dado origen a cepas más epidémicas o virulentas del virus. El análisis epidemiológico del dengue demuestra que algunas cepas están asociadas con epidemias tenues y de poca ocurrencia de FHD e ineficiente transmisión del virus, mientras que otras están involucradas en severas epidemias con alta incidencia de FHD/SCD y rápida transmisión del virus.

Por ejemplo, estudiando la variación genética del virus DEN-3 se ha conseguido determinar cuatro genotipos de este serotipo (Figura 30). El genotipo I comprende virus Indonesia, Malasia y Filipinas y las Islas del Pacífico; el genotipo II comprende virus de Tailandia; el genotipo III de Sri Lanka, India, África y Samoa; el genotipo IV de Puerto Rico y Taití. El análisis genético indica que el genotipo IV es el más separado de los otros aunque comparten un antecesor en común, pero el grado de evolución en ellos, le ha permitido al genotipo IV divergir del resto. Y se determina que la cepa viral de Puerto Rico y Tahití son antigénicamente y biológicamente diferentes de la cepa viral de Asia (Lanciotti, et al, 1994).

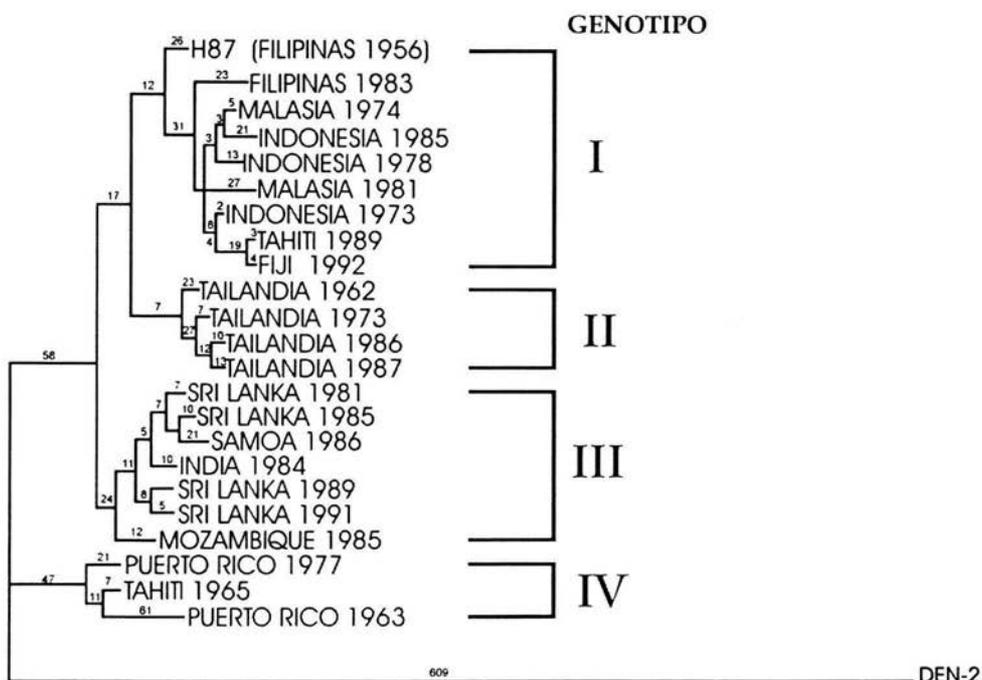


Figura 30. Filograma del virus dengue serotipo 3. Generado a partir del análisis de la secuencia nucleotídica de los genes prM/M y E de 23 virus del DEN-3. Ver apéndice A-5.

Además se ha logrado comprender la epidemiología y movimiento del virus DEN-3 en el mundo. DEN-3 de Puerto Rico (1963) y Tahití (1965) son similares (genotipo IV), sugiriendo que la cepa del Caribe se introdujo a Tahití, además que las epidemias que causa nunca han estado asociadas con FHD. Sin embargo la epidemia de Tahití en 1989 fue causada por el genotipo I que al parecer fue introducido de Indonesia, Malasia y Filipinas. El aislamiento del genotipo I del virus DEN-3 de casos de FHD en Indonesia en 1976 y Tailandia 1987 asocia a este serotipo con la forma severa de la enfermedad. El DEN-3 aislado de las epidemias de FHD en 1989 a 1991 en Sri Lanka es clasificado como genotipo III (Lanciotti, et al, 1994). Para 1994, DEN-3 originario de la India es detectado en Nicaragua y Panamá, donde causo grandes epidemias en 1989-1992. En 1994 se reporta por primera vez dengue 1, 3 y 4 en Costa Rica; en 1995 DEN-3 causa epidemias a través de América Central, se reporta por primera vez en Costa Rica y México; en 1996 en Guatemala, Honduras; en 1997 en Belice, en 1998 en Aruba, Barbados y Guyana, en 1999 en Venezuela.

Para los serotipos 1 y 2 se han identificado para cada uno de ellos 5 genotipos. Para el virus DEN-1, el genotipo I contiene virus de América, África y Sur de Asia; el segundo solamente de Sri Lanka, 1969; el tercero de Japón 1943; el cuarto incluye cepa del sureste de Asia, Pacífico Sur, Australia y México; el quinto contiene virus de Taiwán y Tailandia (Figura 31). El genotipo I de DEN-1 tiene una amplia distribución geográfica, ya que se ha expandido en los tres continentes: América, África y Sur de Asia, lo que sugiere que posiblemente durante los 60s, el progenitor de este genotipo fue ampliamente diseminado, estableciendo numerosos nichos. Los virus DEN-1 aislado de Japón 1943 y de Sri Lanka 1969 están muy poco relacionados con los aislados mas recientes, dado que cada uno es el único miembro de su genotipo. No se ha reportado que estos genotipos causen enfermedad lo que sugiere una posible desaparición de los mismos (Rico-Hesse, 1990).

A principios de 1977, el DEN-1 causa epidemias en el Caribe, comenzando con un brote amplio por Jamaica que se expande a Cuba, donde se reportaron 477,449 casos en 1977 y 75,692 en 1979, fue la primera epidemia reportada de dengue desde 1945 en Cuba. Posteriormente, casi todas las islas del Caribe fueron afectadas por el serotipo DEN-1. En América del Sur se originaron epidemias en Colombia, Guyana Francesa y Venezuela, mientras que en Centroamérica se notificaron epidemias en Honduras, El Salvador, Guatemala y Belice. En la segunda mitad de 1980 el DEN-1 se extendió a los estados de Texas, en los Estados Unidos, donde por primera vez, desde 1945, se confirmaron casos autóctonos.

Para DEN-2 el primer genotipo incluye virus del Caribe, México y Sur de América; el segundo de Taiwán y Filipinas, Nueva Guinea y Thai y de América; el tercero incluye de Vietnam, Jamaica y Tailandia y otros de América; el cuarto contiene de Indonesia, Burkina Faso y Sri Lanka; y el quinto incluye un único virus aislado del África: Guinea, 1981 (Figura 32). La estrecha relación entre el DEN-2 aislado de

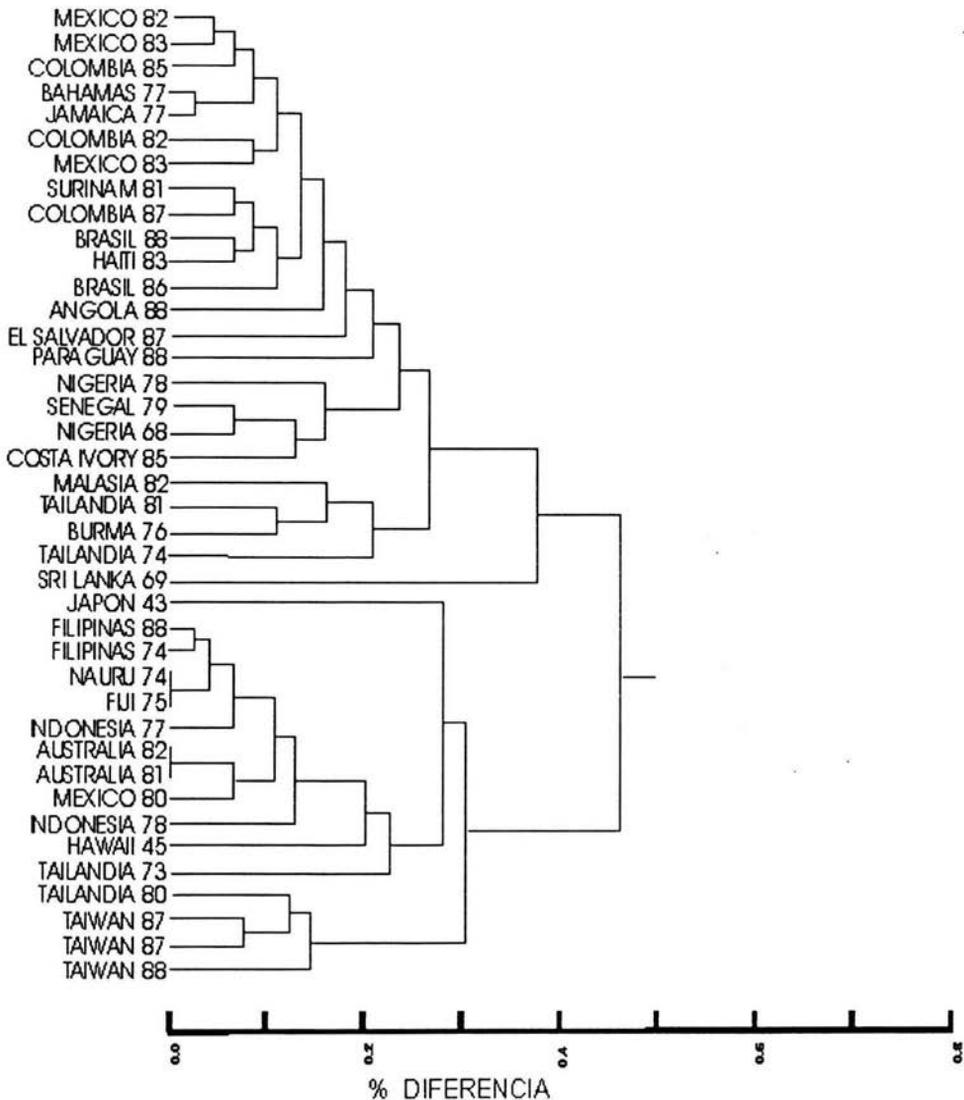


Figura 31. Filograma del virus dengue serotipo 1. Muestra la relación genética entre 40 virus del serotipo 1 de dengue, construido por medio de la comparación de todas las secuencias nucleotídicas de las cepas virales. Ver apéndice A-3

La estrecha relación entre el DEN-2 aislado de Taiwán y Filipinas sugiere que la procedencia del genotipo DEN-2 que origina las epidemias en Taiwán sea de Filipinas. En contraste, las epidemias causadas en Taiwán por DEN-1 fue por la importación del virus DEN-1 de Tailandia.

Las cepas virales de DEN-2 aisladas de Jamaica (1981, 1982, y 1982) están estrechamente relacionadas a las de Vietnam (1987) y Thai (1983), las muestras de Puerto Rico, Colombia, Venezuela y México de diferentes años representan el genotipo nativo americano.

Mediante este estudio, se ha conseguido determinar el origen de la primera epidemia de FHD en América, en Cuba en 1981. De 1977 a 1980, Vietnam sufrió cada año severas epidemias de dengue, y durante ese mismo periodo, personal militar llegó a Vietnam. La epidemia en Cuba fue detectada en Mayo de 1981, proponiendo que los militares en estado virémico transportaron el virus D-2 de Vietnam a Cuba, iniciando así la epidemia (figura 32). La segunda gran epidemia de FHD en América, ocurre en Venezuela en 1981 donde se aislaron los serotipos 1, 2 y 4, donde los casos más severos fueron asociados con el serotipo 2 y en Colombia en 1990 se confirman casos de FHD, posiblemente a consecuencia de su cercanía con Venezuela. La tercera epidemia comienza en Brasil en 1990 y también esta asociada con el serotipo 2. Para México únicamente se han reportado casos esporádicos de FHD en el periodo 1984-1993; sin embargo en 1995, se confirmaron 358 casos de FHD con aislados del serotipo 2, genotipos del sureste de Asia o Jamaica. Se ha estudiado la relación que existe entre la introducción del genotipo del virus DEN-2 del Sureste de Asia y la aparición de FHD en cuatro países de América (México Venezuela, Brasil y Colombia), estableciendo que este genotipo fue introducido de Asia América desplazando al genotipo nativo Americano, el cual no estaba asociado a casos de FHD (Rico-Hesse, et al, 1997).

El DEN-4 se introdujo en América en 1981 probablemente importado de la Polinesia Francesa, causando una serie de brotes en el Caribe, Centroamérica y en el norte de América del Sur. En 1981-83 DEN-4 emerge en América identificándolo en Puerto Rico en Septiembre de 1981, Jamaica, St. Lucía e Islas Vírgenes, entre otros. En 1982 DEN-4 se reporta por primera vez en Barbados, Belice, República Dominicana, El Salvador, Haití, Trinidad y Tobago, etc.

En resumen, la evolución genética que han tenido los serotipos del virus de dengue, y su análisis genético junto con las observaciones epidemiológicas sugieren que los distintos genotipos poseen deferencias en cuanto a su potencial epidémico o de virulencia. Además nos muestra la amplia distribución que presentan los genotipos como el genotipo asiático que actualmente se encuentra en América causando epidemias de FHD. La práctica de estos estudios en todo el mundo nos proporcionaría datos que podrían permitir determinar rápidamente el origen geográfico de nuevas epidemias de dengue y monitorear la efectividad de las medidas de control y predecir comportamientos epidemiológicos del virus y sus genotipos en una población, en la que se introduce por primera vez.

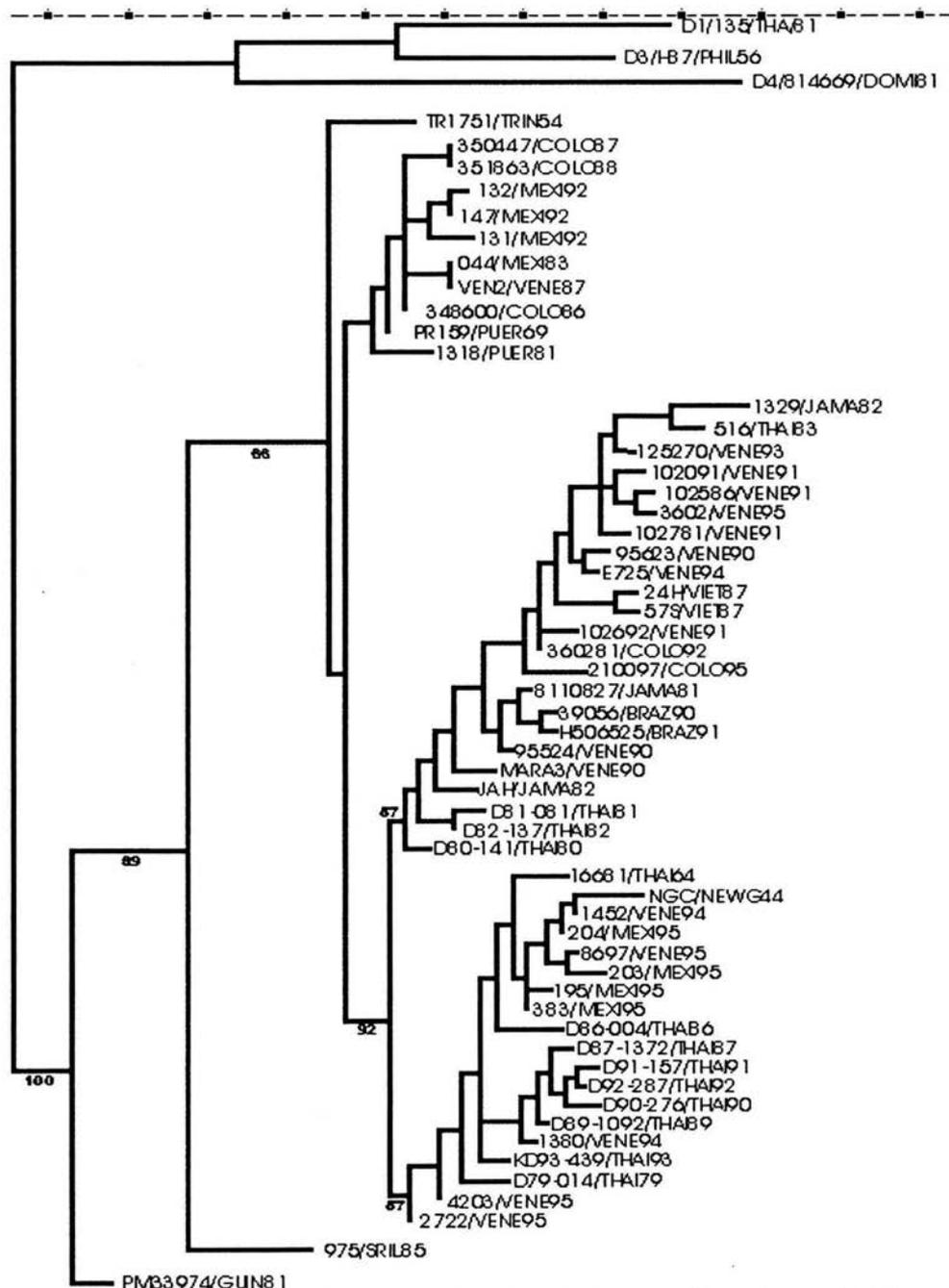


Figura 32. Arbol filogenético del serotipo 2 del virus de dengue. Generado a partir del análisis de la secuencia nucleotídica (240 pb) de los genes E/NS1 de 55 virus del DEN-2 y los un tipo representativo de los serotipos DEN-1, DEN-3, DEN-4. los virus son listados por el número de la cepa viral, seguido por la abreviación, país y año. Ver apéndice 4

CAPITULO VIII. VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

Con 2.5 billones de gente en todo el mundo viviendo en zonas de riesgo para la transmisión del dengue, el control del virus y su vector son de gran importancia en la salud pública mundial. Después del resurgimiento del vector *Ae. aegypti* en América, su control no ha sido exitoso, por lo cual la OPS ha considerado importante la practica de campañas de erradicación en todo el continente (Lancet, 1997).

El dengue en México ha progresado; a causa del aumento del número de casos en sus formas severas y la posible aparición de epidemias de dengue hemorrágico, se ha propuesto en operación un sistema de vigilancia epidemiológica específico para el padecimiento, el cual tiene como objetivo determinar la frecuencia y distribución de la enfermedad en la población, conocer su magnitud e impacto, y establecer los grupos y áreas en mayor riesgo, con el fin de orientar las acciones de prevención y control. (Montesano, et al, 1995).

El sistema de vigilancia epidemiológica del dengue se fundamenta en la recopilación y análisis de información epidemiológica, principalmente los factores de riesgo involucrados en la transmisión como los relacionados con la población, el individuo, el vector, los serotipos causales y el entorno ecológico que les rodea; por tanto, incluye aspectos clínicos, virológicos, entomológicos y factores de riesgo (Montesano, et al, 1995).

De esta manera se tiene como ventaja poder organizar y canalizar las actividades de control hacia las áreas y grupos de mayor riesgo, caracterizar clínica y epidemiológicamente la enfermedad, conocer la distribución y densidad del vector, detectar oportunamente su presencia e incluso la emergencia de nuevos serotipos o cepas específicas en un área determinada, todo con el fin de estimar el riesgo de epidemias de las formas graves de la enfermedad, reconocerlas en forma oportuna y favorecer su manejo inmediato y adecuado, reduciendo su letalidad (Montesano, et al, 1995).

Se identifican los factores que facilitan la presencia y persistencia de la enfermedad en el individuo, en la población, en el ambiente, en el vector y en el virus. El conseguir identificar, cuantificar y analizar los distintos elementos que condicionan o determinan la transmisión de la enfermedad, así como su presentación clínica, permite predecir el comportamiento del padecimiento y manejar cada uno de estos factores para modificar la historia natural de la enfermedad en la población.

VIII.1. VIGILANCIA CLÍNICA.

Tiene como fin regular y unificar los procedimientos de diagnóstico para la detección, notificación, estudio, seguimiento y clasificación de casos.

La vigilancia tiene los siguientes objetivos:

- ❖ Demostrar la presencia de la enfermedad.
- ❖ Realizar su caracterización epidemiológica.
- ❖ Detectar oportunamente la presencia de formas hemorrágicas.
- ❖ Determinar los serotipos circulantes.
- ❖ Cuantificar y estratificar los diversos factores de riesgo para contraer la enfermedad.

Las normas para la vigilancia del dengue establecen que está es una enfermedad de notificación obligatoria, e incluye la notificación de casos como parte de un brote, los detectados por la medicina privada y fuentes de información no medica. En una región o localidad determinada, el punto inicial de la vigilancia será demostrar que existen casos.

Para esto es necesario demostrar realizar estudios serológicos en una parte (por ejemplo, el 10 %) de los pacientes con cuadros clínicos sospechosos de padecer dengue. Una vez que se confirma que los cuadros clínicos o una proporción de ellos se deben al dengue, no es necesario confirmar por laboratorio el resto, por lo que se dan por confirmados con base en la definición operacional debido a que la vigilancia de dengue tiene como propósito determinar áreas con dengue para la búsqueda de formas hemorrágicas y la determinación de los serotipos circulantes, que es la meta final del sistema de vigilancia.

Una vez detectada la presencia de la enfermedad en un área, es necesario buscar casos de FHD y el aislamiento viral para determinar el o los serotipos causantes. Simultáneamente, se debe recabar la información necesaria para cuantificar y estratificar los demás factores de riesgo de enfermedad.

Asimismo se deben realizar, las siguientes actividades:

- ❖ Búsqueda intencionada de casos de casos de FHD/SCD.
- ❖ Estudio clínico epidemiológico exhaustivo.
- ❖ Manejo inmediato bajo observación u hospitalización.
- ❖ Demostración de la etiología por laboratorio.
- ❖ Determinación del serotipo causante.

Los casos probables de FHD y SCD son objeto de notificación inmediata por la vía más rápida disponible (dentro de las primeras 24 horas) y deben ingresarse a un registro nominal. Es conveniente alertar a la comunidad y al cuerpo médico sobre las características clínicas y el riesgo de formas hemorrágicas de dengue, para favorecer y facilitar su participación en la vigilancia.

Además de los estudios de laboratorio clínico, tratándose de FHD es indispensable realizar estudios serológicos y virológicos en todos los pacientes. Ya que no se puede predecir la evolución y desenlace del cuadro, es necesario obtener muestras para serología (IgG e IgM), aislamiento y PCR. Lo cual implica tomar muestras de suero diariamente durante la fase aguda de la enfermedad, a fin de asegurar el diagnóstico y muestra de control tres semanas después del inicio del cuadro clínico.

VIII.2. VIGILANCIA VIROLÓGICA.

La vigilancia epidemiológica del virus de dengue se fundamenta en estudios serológicos y virológicos. Si las muestras son tomadas y manejadas adecuadamente, la prueba permite:

- ❖ Establecer el diagnóstico de infección reciente por dengue
- ❖ Estimar si se trata de una primoinfección o infección secundaria
- ❖ Realizar estudios de seroprevalencia en la población y
- ❖ Estimar el riesgo de presentación de formas graves.

Las muestras para aislamiento deben ser tomadas antes del tercer día de haber iniciado el cuadro clínico. El aislamiento positivo confirma el diagnóstico y permite, además, determinar el serotipo causal y la realización de estudios adicionales.

La PCR, detecta con gran sensibilidad y especificidad partículas virales, incluso no infecciosas o bien cuando el virus se encuentra en el suero en forma de complejo con anticuerpos y permite determinar el serotipo causal. Para determinar la prevalencia de anticuerpos en la población, como indicador de infecciones previas, se realiza la prueba de IgG con muestras únicas.

VIII.3. VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA.

En cuanto a la prevención y control, el único eslabón susceptible de ser roto dentro de la cadena de transmisión es la presencia del vector, por lo que todas las acciones se enfocan hacia:

- ❖ La eliminación de criaderos desechables (latas, botellas, llantas viejas, cubetas, etc.)
- ❖ El control físico (lavado, cepillado, cambio de agua, etc.) o bien, control químico con larvicidas en depósitos no desechables (floreros, cisternas, tambos, tinacos, etc.)
- ❖ La eliminación del mosquito adulto con insecticidas
- ❖ Evitar el contacto del huésped con el vector (uso de repelentes, mosquiteros en puertas y ventanas, pabellón, etc.).

La información sobre las características y distribución del vector es prioritaria y la vigilancia entomológica proporciona información sobre la presencia del vector en un área determinada, su densidad y las características de los depósitos usados como criaderos por las hembras. Estas actividades requieren de personal entrenado y recursos especiales

La vigilancia se realiza principalmente en larvas y pupas, que están ampliamente distribuidos, junto con especies de los géneros *Culex* y *Anopheles*, en un sinnúmero de recipientes ya sea: dentro de las casas, en los patios, en las azoteas, en áreas públicas, en depósitos naturales, etcétera. Prácticamente, cualquier lugar en el que se deposite agua y permanezca por más de una semana sin atención especial, es susceptible de convertirse en un criadero de *Aedes* (Montesano, et al, 1995).

Personal capacitado se encarga de la identificación y clasificación de las especies, así como de la caracterización de los criaderos más frecuentes y la coordinación y ejecución de actividades de control. Además la enseñanza de la población a la identificación del mosquito *Aedes* en sus fases, se consigue involucrar en la vigilancia a la gente de zonas endémicas y favorece el control con la participación de la comunidad.

VIII.3.1. CRIADEROS.

La investigación en cuanto a la densidad larvaria en las zonas donde vive el mosquito, la distribución que presenta, y los recipientes que usa como criaderos, deben ser actividades fundamentales en vigilancia entomológica. La cuantificación exacta de estos elementos tiene como objetivo conducir a la mejor decisión y estrategias apropiadas que se aplicarán para detener o controlar una epidemia.

Los mosquitos hembras tienen preferencia por criaderos artificiales como llantas, botellas, etc., y no por cuerpos de agua abierta como charcos, ríos, lagos entre otros, debido a que en el pasado, su hábitat natural fue la selva tropical de África; los lugares para ovipositar fueron los que le proporcionaba la naturaleza como los huecos de los árboles, axilas de algunas plantas, agujeros en los troncos de bambú, huecos en las rocas y plantas que por su propia forma almacenaban agua en su centro, todos llenos de agua de las abundantes lluvias características de los trópicos.

Aunque todavía es posible encontrar larvas de *Ae. aegypti* en criaderos semejantes a sus originales en algunas regiones de México, la deforestación e invasión por el hombre en estas regiones, tuvo como consecuencia la eliminación de estos sitios de oviposición obligando al mosquito a modificar sus hábitos; de esta manera los únicos "huecos" disponibles son proporcionados por llantas, latas abiertas, botellas de plástico y vidrio, y mucho más productos de desecho, que son abundantes en la basura doméstica y urbana de la sociedad. La falta de agua entubada y de suministro permanente en las ciudades, contribuyó a proporcionar nuevos y mayores criaderos: tambos o barriles, piletas, tinacos, cisternas, los cuales cuando no están cubiertos pueden generar gran cantidad de poblaciones larvarias, (Fernández, 1999).

Actualmente se conocen varios criaderos y la clasificación que se les puede dar son de acuerdo a su importancia biológica, frecuencia en los patios domésticos, culturales, según su uso, etc., sin embargo el estudio de todos tiene como fin producir información para aplicar las medidas de control. Los siguientes son algunos criterios de clasificación:

❖ **De acuerdo a su localización en el ambiente de la vivienda: domésticos y peridomésticos.**

Es muy útil en lugares, donde principalmente existan recipientes dentro de la casa, que son usados por las hembras para ovipositar, por ejemplo: los floreros (Figura 33).

Sin embargo, el mosquito es oportunista en sus hábitos de ovipostura, la eliminación de estos floreros solo obligará al mosquito hembra a salir al patio, a pocos metros para buscar otros criaderos disponibles y volverá a entrar a la casa si no hay ventanas y puertas con malla mosquitera, por lo cual es fundamental la necesidad de control simultáneo tanto de criaderos domésticos como peridomésticos.

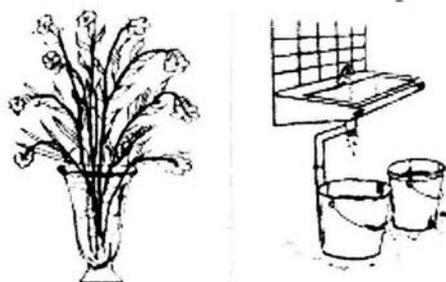


Figura 33. Criaderos domésticos

❖ De acuerdo a su utilidad: desechables y controlables.

Un criadero desechable será aquel que no tiene ninguna utilidad y no tiene razón de estar en la vivienda y es eliminable; un criadero controlable es aquel que en su uso, genera un beneficio pero no puede ser desechado, y por esta razón puede ser controlado utilizando cualquier método o mecanismo de control para desaparecer las poblaciones larvarias, como control químico: abatización o control físico: colocar una cubierta para alejar a las hembras grávidas.

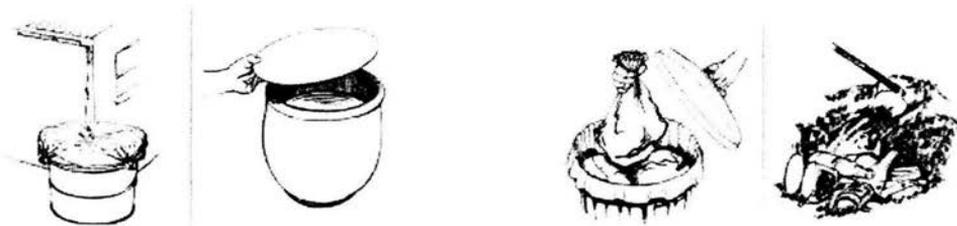


Figura 34. Criaderos controlables y desechables

❖ **Según su estacionalidad durante el año: temporales (lluvias) y permanentes (secas).**

Es un criterio pluvial, su ventaja es que mide la capacidad colonizadora de *Ae. aegypti* sobre cantidad y tipos de recipientes que usa como criaderos a la llegada de las lluvias y cuando aumentan los casos de dengue. Esta información es utilizada para desplegar las campañas de saneamiento ambiental.

También nos dice donde quedarán pegados y deshidratados los huevecillos cuando el agua se evapore en ellos, y sobre los cuales también se deberá poner atención para su futuro control. Los criaderos permanentes serán aquellos que tengan agua la mayor parte del año, y donde el mosquito pasará el invierno, si no bajan demasiado las temperaturas, hasta llegar la estación lluviosa. Conocer los criaderos permanentes o de secas ofrece una oportunidad de aplicar mediadas de control y causar un impacto mayor en la incidencia de los casos durante el periodo de transmisión.

❖ **Por su tamaño: pequeños diversos (< 5 litros) y grandes (> 6 litros).**

Básicamente están en función del volumen para almacenar agua, es un criterio que rápidamente conduce a decidir una campaña de eliminación de basura de los patios y a la aplicación de larvicidas en los criaderos de mayor volumen.

❖ **Por su origen: naturales y artificiales.**

En la actualidad las áreas infectadas con *Ae. aegypti* son en su mayoría urbanas y suburbanas por lo que la mayoría de los criaderos son hechos por la actividad humana o artificiales. Sin embargo hay zonas donde se pueden encontrar larvas en los huecos del suelo rocosos, axilas de plantas, árboles, etc., e incluso en cocos abiertos llenos con agua de lluvias.

❖ **De acuerdo a su productividad larvaria y pupal**

El conteo de larvas es laborioso, pero nos genera mayor información respecto a la importancia de ese criadero, logrando así discriminar entre uno con poca productividad de otro con mayor. De igual manera, los criaderos donde se colecten pupas con mayor frecuencia los señala casi como los mejores productores de mosquitos adultos, y sobre los que se deben concentrar las actividades de control.

-
- ❖ **Por su importancia epidemiológica: mejor combinación de factores de acuerdo a productividad pupal, frecuencia en las viviendas en relación con los otros y utilidad y uso por los moradores.**

Este es el criterio mas completo y que produce información mas precisa con uso en el estudio de la epidemiología y control del dengue.

VIII.3.2. INDICES AÉDICOS.

Los datos obtenidos pueden ser cuantificados y analizados para decidir que hacer. Tres son los estimadores de densidad para poblaciones larvales de *Ae. aegypti* :

- **Índice de Casa:** número de casas inspeccionadas donde se encontró al menos un criadero con larvas de *Ae. aegypti*

$$\text{Índice de Casa} = \frac{\text{Número de casas con al menos un criadero positivo a larvas}}{\text{Número de casas inspeccionadas}} \times 100$$

- **Índice de recipiente:** número de recipientes inspeccionados donde se encontró al menos una larva o pupa.

$$\text{Índice de Recipiente} = \frac{\text{No. de recipientes con al menos una larva o pupa}}{\text{Número de recipientes inspeccionados}} \times 100$$

- **Índice de Breteau:** número de recipientes con al menos una larva o pupa encontrados en 100 casas inspeccionadas.

$$\text{Índice de Breteau} = \frac{\text{No. de recipientes con al menos una larva o pupa}}{\text{Número de casas inspeccionadas}} \times 100$$

El índice que más se emplea para determinar los niveles de infestación es el de casa, sin embargo no indica cuantos recipientes tiene cada casa, ni mucho menos la productividad, lo que lo hace menos efectivo, pero aún así es bastante práctico y útil para evaluar el progreso de los programas de control.

El índice de recipiente tiene la misma desventaja, ya que solo dice cuantos recipientes tienen larvas pero no cuantas casas y su respectiva distribución espacial, pero es un excelente estimador de que tan bien se están llevando a cabo las campañas de descacharrización o abatización, es considerada como un indicador más exigente que el índice de casa para evaluar el control realizado.

El índice de Breteau si establece la relación entre recipientes y casas con larvas del mosquito, aunque tampoco incluye alguna determinación de densidades larvales. Sin embargo, aún con sus limitantes, los tres índices son útiles y la interpretación individual y agrupada de ellos describirá el perfil de riesgo entomológico del área de estudio así como las medidas específicas recomendadas.

Estos índices varían de acuerdo a la época del año, en temporadas de lluvias estos pueden aumentar, así como el número y tipo de recipientes dentro de una misma ciudad, no es el mismo en un área sin agua entubada y en plena temporada de lluvia que otra con niveles mayores de higiene doméstica. Así que hacer una homogenización de todo un municipio con los mismos índices y niveles sólo conducirá a minimizar el problema y diluir el impacto de las medidas de control, o minimizar y pasar por alto un serio riesgo a la salud de los habitantes.

Por lo cual se debe informar los índices y reportar otras características como la presencia de que tipo de contenedores se encontró que dominan el área, ejemplo tambos, llantas, etc. Estos datos ayudarán a enfocar las medidas de control como abatizar tambos, promocionar una campaña municipal de eliminación de llantas, o enviar mensajes educativos específicos sobre ese tipo de criaderos por los medios de comunicación (Fernández, 1999).

Una vez obtenidos estos índices es básico poder interpretarlos, para lo cual se es necesario realizar un análisis cuidadoso y una discusión de los mismos. Y así lograr obtener cual es la mejor decisión, estrategia y tiempos en que se establecerá la implementación de las medidas de control. Un análisis pobre solo significará desperdiciar dinero y tiempo con muchas probabilidades de que la epidemia se mantenga.

Para determinar los niveles de riesgo epidemiológico, la tabla 5 propone los grados de riesgo de acuerdo con los datos de los tres índices aélicos. En general se acepta que tener índices de menos el 5% representan una situación bajo control, y datos arriba de ellos la presencia o el potencial de epidemias.

Niveles de riesgo	ÍNDICES AÉDICOS			Código de color
	Índice de casa	Índice de recipiente	Índice de Breteau	
BAJO	0 - 4.9	0 - 3.9	0 - 4.9	Verde
MEDIANO	5 - 34.9	4 - 19.9	5 - 39.9	Amarillo
ALTO	35 o mayor	20 o mayor	40 o mayor	Rojo

Tabla 5. Niveles de riesgo de epidemias de Dengue de acuerdo a los tres índices aédicos.

CAPITULO IX. CONTROL DEL VECTOR

El propósito del control es prevenir las epidemias de dengue reduciendo la densidad del vector a un nivel en el cual no ocurrirá la transmisión epidémica del virus, mediante la práctica de adecuados programas de control. La prevención y el control del dengue se basan principalmente en el control del vector, que se puede llevar a cabo tomando medidas químicas, biológicas o ambientales

El **control químico** se puede destinar a los mosquitos inmaduros o a los adultos. Los métodos de **control biológico** no se emplean ampliamente y son principalmente experimentales. Sin embargo, una opción que se usa con frecuencia es la colocación de pequeños peces que se alimentan de las larvas de los mosquitos. Recientemente, algunos países también han informado de éxito en el control de las larvas con copépodos, pequeños crustáceos invertebrados que se alimentan de las larvas de los mosquitos en primero y segundo estadio. El **control ambiental** requiere eliminar o controlar el hábitat larvarios donde el mosquito pone sus huevos y se desarrollan los mosquitos. Esto incluye vaciar el agua de los recipientes o sellar los recipientes que se están usando, realizar campañas de limpieza para desechar recipientes que no se están usando, y mejorar el abastecimiento de agua de modo que haya menos necesidad de almacenar agua en recipientes.

Dado que el control químico por lo general está restringido a recipientes que de otro modo no se pueden eliminar o manejar, y el control biológico es en gran medida experimental, los métodos ambientales son probablemente los más efectivos para el control a largo plazo del *Aedes aegypti*. Se puede reducir la densidad del vector al eliminar o reducir el número de hábitat larvarios en el medioambiente doméstico.

IX.1. CONTROL DE POBLACIONES LARVIARIAS

La forma de controlar las poblaciones larvales de *Ae. Aegypti* es mediante dos métodos principalmente:

- ⌘ Aplicación de larvicidas químicos
- ⌘ Campañas de "descacharrización"

Llevados a cabo como una actividad de los diversos sectores del gobierno y grupos sociales, pero principalmente hay un tercer método que involucra la necesidad del apoyo de la comunidad, lo que tiene un mayor impacto en el control.

IX.1.1 Abatización de criaderos.

Si la reducción de los criaderos es una procedimiento parcialmente efectivo o poco practicada, se usan larvicidas como el abate para la eliminación del vector en su estadio como larva. **ABATE**. Es un insecticida órganofosforado muy eficaz como larvicida y de baja toxicidad para los mamíferos y otros animales. El abate mata por ingestión, por lo tanto no tiene efecto alguno en las pupas las cuales solo respiran y no se alimentan. Es un líquido viscoso, color café, 90 a 95 % de pureza, con no más de 0.07 de solubilidad en agua. En su formulación en granos de arena, el abate tiene acción larvicida residual de hasta 100 días cuando el agua del recipiente se mantiene sin usarse, pero como muchos de los recipientes son domésticos, estos son constantemente usados y lavados frecuentemente, la acción residual se reduce drásticamente. Por esta razón y otras de tipo operativo se recomienda repetir la dosis cada dos meses.

Dosis. Se usa a concentración de una parte por millón (1 miligramo de abate por litro de agua), lo que corresponde a 0.0001% de abate en el agua tratada. El abate es muy seguro para los mamíferos, tiene una dosis letal 50 aguda oral de 8,000 ppm o mg/kg de peso corporal, una persona tendrá que ingerir 8,000 l. de agua tratada por kg de peso para intoxicarse. Las pruebas de toxicidad en aves, peces y otros animales dan resultados de niveles de toxicidad muy bajos. No se detectó ningún grado de toxicidad en plantas, sin embargo, aún así se deben tomar siempre precauciones pues seguirá siendo una molécula química con posibles riesgos aún no demostrados.

METODOLOGÍA PARA LA APLICACIÓN DEL ABATE.

Para obtener mejor resultados en la campaña de "abatización" es necesario:

- ⌘ Visitar todas las casas del área de trabajo, incluso las que se encuentran cerradas (esto es muy importante).
- ⌘ Localizar, calcular el volumen y tratar todos los depósitos que contengan agua o sean capaces de contenerla, aunque en el momento de la visita se encuentren vacíos.
- ⌘ En el momento de la visita destruir todos los depósitos que puedan ser eliminados o inutilizados para contener agua, pidiendo permiso al dueño de la vivienda y explicando por qué se hace.
- ⌘ Los depósitos pequeños no necesitan ser calculados, se determinará su capacidad por la apreciación visual, y se le colocará una pizca de abate por cada 5 litros o menos.
- ⌘ El abate se colocará en los depósitos con la cuchara de medida (depósitos grandes) o con los dedos (depósitos pequeños) después de esto se procederá a humedecer las paredes internas por encima del nivel del agua, con el fin de favorecer la eclosión de los huevos de Aedes que allí se encuentren.
- ⌘ Se explicará a los vecinos de cada casa la importancia que tiene y lo necesario que es para su propia protección la conservación del abate aplicado en los depósitos, informándoles muy claramente que NO ES TÓXICO, para los seres humanos, que es un producto que aplica la Secretaría de Salud y está autorizado por la Organización Mundial de la Salud, etc.
- ⌘ Es conveniente NO MENCIONAR la palabra "insecticida" para referirse al abate, pues los inquilinos se sentirán inclinados a atribuir al abate todo tipo de malestar gástrico que manifiesten esos días, y tratarán de eliminar el abate de sus depósitos.
- ⌘ se tratarán las cisternas y tinacos elevados que contengan y que no estén en uso, incluso en las casas desocupadas
- ⌘ No se tratarán las albercas que son utilizadas habitualmente. Se recomendará que se mantengan vacías (sin residuos de agua) las que no tengan uso.
- ⌘ Los barcos anclados en puertos serán inspeccionados y tratados como si fueran casas.
- ⌘ En la parte externa de depósitos grandes se marcará con tiza de cera o crayón la capacidad de litros y el número de cucharadas que debe aplicarse (para aplicaciones futuras).
- ⌘ Al finalizar cada ciclo, se reiniciará el trabajo en el mismo lugar donde se inició, de modo que cada casa reciba un tratamiento cada dos meses.
- ⌘ Independientemente de su tamaño, a toda llanta usada se le aplicará media cucharada de abate. Si es posible, es conveniente girarla varias veces, a fin de que el agua que contiene humedezca las paredes internas y produzca la eclosión de huevos. Siempre que se pueda lo más conveniente es destruirla. Las llantas nuevas deben almacenarse bajo techo.

-
- ⌘ Los depósitos de agua que permanezcan herméticamente tapados, no reciben tratamiento .
 - ⌘ No se debe aplicar el larvicida abate en: cazuelas o utensilios de cocina que se utilizan, acuarios con peces pequeños, bebederos de pájaros enjaulados o de pollitos pequeños; debe recomendarse que se mantengan los acuarios bien tapados y que se cambie el agua de los bebederos frecuentemente.
 - ⌘ Marcar con "T" los depósitos tratados.

IX.2 CONTROL DEL MOSQUITO ADULTO.

Es preferible dentro del esquema de métodos de control del mosquito enfocarse en la eliminación de las poblaciones larvales, y aún mejor; reducir los recipientes que son utilizados como criaderos. Sin embargo en situación de emergencia epidemiológica es necesario aplicar mediadas integrales y simultáneas de control; y esto incluye el ataque a las poblaciones larvales y mosquitos adultos particularmente a las hembras infectadas (virus replicándose en células del intestino medio) e infectivas (virus ya presente en glándulas salivales).

El objetivo de actuar sobre la fase adulta del vector persigue las siguiente metas:

- ⌘ Reducir las densidades de hembras a un nivel que se detenga la transmisión
- ⌘ Prevenir el incremento de densidades del vector en un área con potencial de transmisión.
- ⌘ Completar las mediadas antilarvarias impactando en ambas fases del mosquito, y obtener resultados rápidos en el rompimiento de al transmisión.

El rociamiento de volumen ultrabajo, o ULV, de insecticidas se practica ampliamente para matar los mosquitos adultos. El rociamiento ULV utiliza máquinas que producen partículas muy pequeñas de insecticida, que son transportadas por las corrientes de aire. Por lo general, las máquinas ULV están montadas en camiones o son máquinas portátiles que pueden ser transportadas por los trabajadores de campo. Las partículas de insecticida deben entrar en contacto con el mosquito para matarlo. Desafortunadamente, el mosquito *Ae. aegypti* tiende a residir en el interior de los hogares, descansando frecuentemente en lugares cerrados, como los armarios, que no son fácilmente penetrables por el rocío de insecticida. Por ende, el rociamiento ULV desde vehículos por lo general es un método costoso e ineficaz, matando muy pocos mosquitos *Ae. aegypti*.

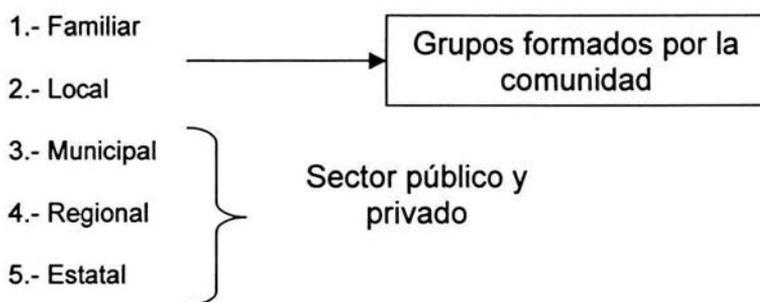
Los rocíos comerciales en aerosol para matar los mosquitos que se encuentran en el interior de las casas son útiles, pero puede producir resistencia en algunas localidades. Las personas que viven allí pueden observar que el insecticida en aerosol sólo tiene un efecto temporal, derribando o paralizando los mosquitos que posteriormente se recuperan y salen volando. En estos casos, los mosquitos rociados también deben ser aplastados para asegurar su eliminación

IX.3. PARTICIPACIÓN COMUNITARIA

Una de las soluciones para prevenir y controlar el desarrollo de larvas y mosquitos de *Ae. aegypti*, es que la participación de la comunidad se establezca como una **estrategia prioritaria**. La OPS en mayo de 1983 afirmó que el control eficiente del mosquito vector *Ae. aegypti* requiere rigurosas medidas de saneamiento del medio. Y para que las medidas de saneamiento produzcan el impacto deseado y tengan la continuidad necesaria, deben ser apoyadas por programas tecnificados de educación en salud que contemplen la participación de la comunidad.

En México la Subsecretaría de Prevención y Protección a la Salud, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica, la Dirección del Programa de Enfermedades Transmitidas por Vectores desarrollaron un: **MODELO DE PARTICIPACION COMUNITARIA PARA LA PREVENCION Y CONTROL DEL DENGUE**, el cual tiene como objetivo general: **lograr que la comunidad desarrolle y mantenga prácticas saludables tendientes a prevenir y controlar el dengue**.

La participación comunitaria opera en cinco niveles:



Lo importante es reunir y convencer a todas las áreas sobre la necesidad de que participen todas las dependencias, desde los gobiernos estatales y municipales, la prensa, el sector educativo, las instituciones de salud, clubes de servicio, organizaciones no gubernamentales, hasta el núcleo esencial de la sociedad: la familia, ya que sin la participación de todos, las acciones de vigilancia y control nunca tendrán éxito.

El proyecto principalmente se basa en organizar y coordinar la participación comunitaria hacia la creación de estrategias y la utilización de todas las herramientas en forma adecuada y oportuna, para conseguir un control efectivo del padecimiento. La siguiente es una tabla que contiene las actividades que se realizan en los diferentes niveles de actuación (Tabla 6) (Montesano, et al, 1995).

LÍNEAS DE ACCIÓN	ACTIVIDADES Niveles de actuación			
	FAMILIA	LOCAL	MUNICIPAL	REG. Y/O ESTADO
PATIO LIMPIO	-Controlar recipientes útiles (ordenar, voltear y tapar) -Deshierbar -Reciclar	-Promover y contatar la realización de acciones familiares	Recolectar basura Disposición final: a)relleno sanitario, b)reciclaje, c)reutilización. -Limpieza y reglamentación de terrenos baldíos	Disposición final: a)rellenosanitari o,b)reci-claje, c)reutilización. - Abogacia para gestionar recursos para protección y atención de la población.
ÁREA LIMPIA	-Promoción de cultura de limpieza (promoción de recolección de basura	-Promoción de cultura de limpieza (promoción de recolección de basura	-Disposición final. -Instalación y recolección de contenedores de basura -Controlar recipientes útiles (ordenar, voltear y tapar). - Eliminar y/o destruir cacharros -Deshierbar. -Reciclar	-Abogacia para gestionar recursos para protección y atención de la población en riesgo
CUIDADO DE LA AGUA ALMA-CERADA	-Controlar recipientes (tapar y lavar) -Control biológico -Control químico	-Promover y contatar la realización de acciones familiares. -Suministrar conntroles (biológicos y químicos)	Suministro de agua entubada intradomiliaria de modo regular Reglamentación	-Abogacia para gestionar recursos para protección y atención de la población en riesgo

Tabla 6. Líneas de acción recomendadas por la Secretaria de Salud.

LÍNEAS DE ACCIÓN	ACTIVIDADES Niveles de actuación			
	FAMILIA	LOCAL	MUNICIPAL	REG. Y/O ESTADO
CUIDADO DEL ENFERMO	-Acudir a la unidad medica ante la identificación de dengue. -Evitar la automedicamentación en caso de sospechar de dengue en especial de AAS. -Buscar atención medica ante cualquier señal de FHD. -Aplicar medidas de control al enfermo para evitar contacto con el mosquito	-Promover y contatar la realización de acciones. -Referir o reportar a los febriles a la unidad medica. -Gestionar recursos para asegurar la protección del enfermo.	-Promover y contatar la realización de acciones -Promocionar recursos para asegurar la protección y atención de los enfermos	-Abogacia para gestionar recursos para protección y atención de la población en riesgo

Tabla 6 continuación. Líneas de acción recomendadas por la Secretaria de Salud.

Por ejemplo, la práctica de patio y casa limpia trae consigo ventajas que abarcan desde no solo evitar el contagio de dengue, sino también de otras enfermedades infecto contagiosas como hepatitis, infecciones gastrointestinales, cutáneas, tetano, piojos y hogos, entre otras; evitar accidentes como cortadura y golpes; se evita que se formen alberges optimos para animales nocivos como mosquitos, viboras, arañas, ratas.

Así como un ahorro económico por que se evitan gastos en consultas médicas, medicinas, se evitan días laborales perdidos por incapacidad; además que se tienen mejores condiciones para la familia en cuanto a un lugar apropiado para descansar, trabajar, le da un mejor aspecto estético a la casa; todo esto lleva a una mejora en la calidad de vida.

X. CONCLUSIONES

A consecuencia de los problemas de salud y económicos que ocasiona en México y en el Mundo, el dengue es considerado como una prioridad en la salud pública. Es un problema que requiere de atención inmediata y actualmente se tiene como reto el control efectivo del vector en todas las zonas urbanas y suburbanas que tienen el riesgo de presentar epidemias de dengue

En nuestro país, el dengue es considerado un problema de gran importancia ya que la aparición de epidemias en el país genera un gran impacto social y económico, debido a que demanda servicios que van desde un gran número de consultas y en el caso de hospitalización requieren personal especializado para su atención, además de que en las epidemias de dengue, la gente más perjudicada es la productiva. Hasta la fecha no se ha determinado exactamente el impacto económico que causan las epidemias de dengue, más sin embargo, las epidemias de dengue hemorrágico sufridas en otros países sugieren que este puede ser considerable y nos da a comprender lo trascendental que resulta fortalecer los programas de vigilancia, prevención y control de la enfermedad.

En México el dengue posee un comportamiento de alto riesgo. Debido la amplia distribución y aumento de densidad del vector en muchos estados del país, la presencia de poblaciones susceptibles y la actual circulación de los cuatro serotipos del virus DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4, pone al país en condiciones óptimas para la presencia de epidemias de la enfermedad.

En México, el dengue y sus formas severas, y el control del vector *Ae. aegypti* cobran gran importancia, debido a la aparición de casos de dengue hemorrágico en varios estados ha causado pérdidas humanas, y económicas que podrían evitarse si se toman todas las precauciones necesarias (programas efectivos de control y vigilancia del mosquito vector *Ae. Aegypti*), tanto por las instituciones obligadas como por la comunidad. Ya que la concientización en cuanto a que la participación de la comunidad en el control del mosquito vector, hace que estos programas realmente sean efectivos.

La posibilidad de implementar programas efectivos y de bajo costo hace que el dengue pueda llegar a ser realmente una enfermedad controlable, siempre y cuando se concientice a la gente que su cooperación es básica para el cuidado de su salud. Por lo cual las campañas de orientación a la gente por personas especializadas en el problema, son muy ventajosas. Actualmente en México se aplican estrategias que arremeten principalmente contra la fase larvaria del vector, entre otras, sin embargo, para tener un mejor resultado se requiere de que la participación de la comunidad sea la estrategia principal para lograr que el control de la enfermedad sea permanente.

El dengue es una enfermedad que no posee un signo patognómico que facilite su adecuado diagnóstico, por lo cual es necesario aplicar técnicas óptimas que permitan detectar la rápida y exacta la presencia del virus de dengue e incluso del serotipo que posea el paciente. El determinar el serotipo circulante en la zona, diagnosticarlo de manera temprana y monitorear su diseminación geográfica nos permite conocer la dinámica de la transmisión y los factores de riesgo. Por ejemplo el demostrar que existen poblaciones de individuos que presentan inmunidad con un serotipo diferente del que está circulando, es de gran importancia pues nos indica que el riesgo es mayor para el desarrollo en esa población, de las formas severas de la enfermedad.

El conocimiento que posea el personal de salud en cuanto al diagnóstico y tratamiento del dengue, ayudará a evitar pérdidas humanas y detectar rápidamente la presencia de una epidemia y así evitar que la expansión de la enfermedad sea mayor. Por lo cual, se requiere reconocer lo importante que resulta detectar la existencia del virus de dengue circulante o de este padecimiento en los diferentes estados de México susceptibles a la enfermedad, tener laboratorios bien equipados con personal capacitado, que realice un efectivo y rápido diagnóstico de la enfermedad. En conclusión es importante que los estados del país cuenten con personal con conocimiento del manejo de las principales técnicas de diagnóstico para el dengue, así como el equipo poseer lo necesario para poder llevarlas a cabo, es decir laboratorios equipados con personal capacitado.

XI. GLOSARIO

Ascitis:	Acumulación de líquido en la cavidad peritoneal por exudación o trasudación.
Adenopatía:	Enfermedad de los ganglios, especialmente de los linfáticos
Adinamia:	Falla o pérdida de la fuerza normal. // Astenia.
Albuminuria:	Presencia de albúmina en la orina.
Anuria o anuresis:	Supresión o disminución de la secreción urinaria.
Bradicardia:	Lentitud anormal del pulso o de la frecuencia cardíaca.
Cefalea:	Dolor de cabeza.
Coagulación intravascular diseminada:	Coagulación por consumo de factores.
Coma:	Estado de sopor profundo con abolición del conocimiento, sensibilidad y movilidad en el curso de ciertas enfermedades o después de un traumatismo grave.
Conjuntivitis:	Inflamación de la conjuntiva.
Derrame pleural:	Presencia anormal de líquidos que puede ser hemático, seroso o purulento en la pleura. Pleura: membrana serosa que tapiza el pulmón y se refleja en las paredes torácicas dejando entre ambas hojas (visceral y parietal) una cavidad que normalmente contiene una pequeña cantidad de líquido seroso que facilita el desplazamiento de una sobre en los movimientos respiratorios.
Esplenomegalia:	Aumento de volumen o hipertrofia del bazo.
Equimosis:	Extravasación de sangre en el interior de los tejidos. // Coloración producida por la infiltración de sangre en el tejido celular, subcutáneo o por la rotura de vasos capilares.
Exantema:	Erupción, mancha cutánea.// Enfermedad eruptiva y erupción que caracteriza esta enfermedad.
Fibrinolisis:	Disolución de la fibrina por acción de las enzimas.
Fotofobia:	Intolerancia anormal para la luz, especialmente la provocada por afecciones oculares.
Gingivorragia:	Hemorragia de encías.
Hematemesis:	Vómito de sangre.
Hematoma:	Tumor por acumulación de sangre.
Hematuria o hematuria:	Emisión de orina con sangre.
Hepatomegalia:	Aumento de volumen del hígado.
Hemoptisis:	Expulsión, por medio de la tos de sangre contenida en la tráquea, bronquios o pulmones.
Hiperemia:	Acumulación de sangre en una parte u órgano. CONGESTIÓN
Hiporexia:	Anorexia moderada; desgana.
Hipotensión:	Tensión o presión baja o reducida, especialmente de la sangre
Ictericia:	Coloración amarilla de la piel, la mucosas y secreciones debido a la presencia de bilirrubina en la sangre.
Letargo:	Estado patológico de sueño profundo y prolongado.
Leucopenia:	Reducción del número de leucocitos en la sangre.

Macula:	Lesión cutánea elemental que consiste en una mancha roja de dimensiones variables que no se eleva de la piel y que desaparece por vitropresión.
Melena:	Expulsión de sangre alterada por el ano, sola o con heces.
Metrorragia:	Hemorragia uterina sin relación menstrual.
Miocardopatía:	Termino general que designa a las enfermedades del tejido del tejido miocárdico que no sea consecuencia de una valvulopatía ni causada por una arteriosclerosis coronaria.
Oliguria:	Secreción escasa de orina.
Pápula:	Elevación eruptiva pequeña, sólida y circunscrita de la piel que ordinariamente termina por descamación; constituye una de las lesiones elementales de la piel.
Parénquima:	Elemento esencial específico o funcional de un órgano, generalmente glandular, en distinción del estroma o tejido intersticial.
Patognómicos o patognomónico:	Dícese del signo o síntoma específico de una enfermedad y que basta para establecer el diagnóstico.
Permeabilidad vascular:	Propiedad del endotelio vascular de permitir el paso de determinados componentes hemáticos a los tejidos.
Petequia:	Pequeña mancha en la piel formada por efusión de sangre; no desaparece por compresión ocasionada con el dedo.
Postración:	Abatimiento o agotamiento extremos.
Prurito:	Sensación particular que incita a rascarse.
Somnolencia:	Deseo irresistible de dormir y pesadez y torpeza derivado de ello.
Tensión arterial:	Energía de la contracción de las arterias proporcional a la intensidad del flujo sanguíneo; presión arterial.
Trombocitopenia:	Disminución del número de plaquetas en la sangre.
Vitropresión:	Presión con un vidrio aplicado a la piel; medio auxiliar de diagnóstico dermatológico para descubrir coloraciones cutáneas anormales que pueden estar ocultas por la hiperemia.

XII. APÉNDICE

A-1. Casos de dengue clásico y FHD en México desde 1980 al 2003.

Fuente: http://rhone.b3e.jussieu.fr/DengueNet/pages/f_activity.html

Periodo	Casos de DC	Casos FHD	Muertes	Incidencia
80 - 81	51406	No Reportadas	No Reportadas	60.2
81 - 82	17046	No reportadas	No reportadas	20
82 - 83	32640	No reportadas	No reportadas	38.2
83 - 84	19028	No reportadas	No reportadas	22.3
84 - 85	27645	8	No reportadas	32.4
85 - 86	13688	No reportadas	No reportadas	16
86 - 87	19520	No reportadas	No reportadas	22.8
87 - 88	13371	No reportadas	No reportadas	15.6
88 - 89	10526	No reportadas	No reportadas	12.3
89 - 90	7120	4	No reportadas	8.3
90 - 91	14485	No reportadas	No reportadas	17
91 - 92	7158	2	No reportadas	8.4
92 - 93	8131	No reportadas	No reportadas	9.5
93 - 94	2899	No reportadas	0	3.4
94 - 95	6770	30	7	8
95 - 96	17088	539	30	20.6
96 - 97	20687	1456	4	25.2
97 - 98	35108	981	37	41.4
98 - 99	23639	372	14	28.1
99 - 00	14667	129	0	17.4
00 - 01	21660	67	0	25.4
01 - 02	6210	191	0	7.5
02 - 03	2581	424	0	3.5

A-2. Casos por entidad federativa de Dengue Hemorrágico, periodo 2002 hasta la semana epidemiológica 21 del 2003. FUENTE: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica. *Información preliminar.*

ENTIDAD FEDERATIVA	Dengue Clásico	Dengue Hemorrágico
Campeche	15	1
Colima	643	97
Chiapas	96	23
Guerrero	334	53
Jalisco	16	3
Michoacán	50	5
Nayarit	35	15
Nuevo León	12	0
Oaxaca	36	7
Quintana Roo	157	29
Sinaloa	2	1
Tabasco	6	4
Tamaulipas	9	0
Veracruz	566	4
Yucatán	42	23

A-3. Cepas de virus dengue serotipo 1 empleadas en el análisis genético comparativo

Cepa viral	Pases (historia)	Localización	Año
Mochizuki	MOUSE 176, SM.4	Nagasaki, Japón	1943
Hawai	MONK.1, MOSQ.6, C 3	Hawaii	1945
691475	SM.2, MOSQ.2, MK2 1	Sri Lanka	1969
IBH28326	SM.21, C6/36 2	Nigeria	1968
094	MOSQ.1, C6/36 2	Bangkok, Tailandia	1973
106	MOSQ.1, C6/36 2	Bangkok, Tailandia	1974
16299	MOSQ.?, C6/36 1	Nauru	1974
228682	MOSQ.?, C6/36 1	Manila, Philippines	1974
222683	MOSQ.4, C6/36 1	Fiji	1975
228686	MOSQ.?, C6/36 1	Burma	1976
777849	AP61 1, MK2 1, C 3	Bahamas	1977
228690	MOSQ.?, C6/36 1	Jamaica	1977
1186	MOSQ.2, C6/36 1	Jakarta, Indonesia	1977
1236	MOSQ.2, C6/36 1	Jakarta, Indonesia	1978
IBH13689	SM.8	Nigeria	1978
DAK29177	MOSQ.1, C6/36 1	Bandia, Senegal	1979
1298	MOSQ.2, C6/36 1	México	1980
PUO-359	C6/36 1	Bangkok, Thailand	1980
D81-135	MK2 3, C6/36 4	Bangkok, Thailand	1981
816879	NONE	Surinam	1981
TI4	C6/36 1	Isla Thursday, Australia	1981
CS1	C6/36 1	Australia	1982
1310/82	MK2 2, C6/36 2	Kuala Lumpur, Malasia	1982
1344	MOSQ.2, C6/36 1	México	1982
1351	MOSQ.2, C6/36 1	Colombia	1982
1413	MOSQ.2, C6/36 1	Haiti	1983
1412	MOSQ.2, C6/36 1	México	1983
1378	MOSQ.2, C6/36 1	México	1983
347869	C6/36 3	Caqueta, Colombia	1985
ArA15120	C6/36 1	Costa Ivory	1985
CEA147	?	Ceara, Brasil	1986
766602	C6/36 2, AP61 1	Kaohsiung, Taiwan	1987
765101	C6/36 3	Tungkang, Taiwan	1987
351094	C6/36 3	Guaviare, Colombia	1987
1916	MOSQ.1	El Salvador	1987
027	AP61 2	Manila, Philippines	1988
28973	C6/36 8	Brasil	1988
36589	C6/36 2	Angola	1988
779172	C6/36 3	Kaohsiung, Taiwan	1988
2000	MOSQ.1	Paraguay	1988

Abreviaturas : AP61 línea celular *Aedes pseudoscutellaris*; C o C6/36: línea *Ae. albopictus*, MK2 Línea celular de riñón de mono; MONK: Mono rhesus; MOSQ: mosquito; NONE: obtenido del suero de pacientes en fase aguda; SM cerebro de ratón lactante

A-4 Cepas de virus serotipo 2 en América empleadas en el análisis genético comparativo

Cepa viral	Pases (historia)	Localización	Año	Clínica
NGC	monk. 1, C6/36 1	Nueva Guinea	1944	FD
TR1751	smb. 57	Trinidad	1954	FD
16681	MK2 1, C6/36 5	Bangkok, Tailandia	1964	FHD
PR159	PGMK 6	Puerto Rico	1969	FD
D79-014	MK2 2, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1979	FD
D80-141	MK2 3, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1980	FHD
1318	mosq.2,c636 1	Puerto Rico	1981	FD
8110827	None	Jamaica	1981	FD
PM33974	mosq.1,C6/36 1	Republica de Guinea	1981	FD
D81-081	C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1981	FHD
D82-137	C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1982	FD
1329	mosq.1,C6/36 2	Jamaica	1982	FD
JAH	C6/36 2	Jamaica	1982	FD
0.44	C6/36 2	Tapachula, Chiapas, México	1983	FD
D83-516	Ts1, C6/36 2	Bangkok, Tailandia	1983	FD
975	C6/36 3	Sri Lanka	1985	FD
348600	C6/36 3	Tumaco, Nariño, Colombia	1986	FD
D86-004	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1986	FHD
D87-1372	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1987	FD
24H	C6/36 1	Hanoi, Vietnam	1987	FD
57S	C6/36 1	Saigon, Vietnam	1987	FD
VEN2	AP61 2	Maracay, Aragua, Venezuela	1987	FD
350447	C6/36 3	Tolima, Colombia	1987	FD
351863	C6/36 3	Tolima, Colombia	1988	FD
D89-1092	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1989	FHD
D90-276	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1990	FHD
MARA3	None	Maracay, Aragua, Venezuela	1990	FD
95524	C6/36 1	Guaribe, Guárico, Venezuela	1990	FD
95623	C6/36 1	Lara, Venezuela	1990	FD
96771	C6/36 1	Caracas, Dto. Federal, Venezuela	1990	FD
38998	C6/36 1	Niteroi, Rió de Janeiro, Brasil	1990	FD
39056	C6/36 1	Niteroi, Rió de Janeiro, Brasil	1990	FHD
40247	C6/36 2	Niteroi, Rió de Janeiro, Brasil	1990	FHD
41464	C6/36 2	Niteroi, Rió de Janeiro, Brasil	1990	FD
41576	C6/36 2	Niteroi, Rió de Janeiro, Brasil	1990	FD
102091	C6/36 1	Táchira, Venezuela	1991	FHD
102586	C6/36 1	Caracas, Dto. Federal, Venezuela	1991	FD
102692	None	Aragua, Venezuela	1991	FHD
102781	C6/36 1	Apure, Venezuela	1991	FD
H506525	C6/36 2	Araguaina, Tocantins, Brasil	1991	FD
D91-157	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1991	FHD
D92-287	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1992	FD

Cepa viral	Pases (historia)	Localización	Año	Clínica
360236	None	Bucaramanga, Santander, Colombia	1992	FD
360281	None	Ibagué, Tolima, Colima	1992	FD
131	C6/36 1	Navojoa, Sonora, México	1992	FD
132	C6/36 1	Navojoa, Sonora, México	1992	FD
147	C6/36 1	Chiapas, Chihuahua, México	1992	FD
125270	C6/36 1	Táchira, Venezuela	1993	FD
KD93-439	Ts 1, C6/36 1	Bangkok, Tailandia	1993	FHD
E725	None	Aragua, Venezuela	1994	FD
1380	None	Portuguesa, Venezuela	1994	FD
1452	None	Miranda, Venezuela	1994	FD
2722	None	Aragua, Venezuela	1995	FD
3602	None	Bolivia, Venezuela	1995	FD
4203	None	Táchira, Venezuela	1995	FD
8697	None	Mérida, Venezuela	1995	FHD
210097	None	Cali, Valle del Cauca, Colombia	1995	FD
195	None	Suichiapa, Chiapas, México	1995	FD
203	None	Comalapa, Chiapas, México	1995	FD
204	None	Tapachula, Chiapas, México	1995	FD
382	None	Tapachula, Chiapas, México	1995	FHD
383	None	Tamazunchale, S. L. Potosí, México	1995	FHD

Abreviaturas : AP61 línea celular *Aedes pseudoscutellaris*: C o C6/36: línea *Ae. albopictus*, FrhL2: línea celular de mono rhesus; MK2: Línea celular de riñón de mono; MONK: Mono rhesus; MOSQ: mosquito; NONE: obtenido del suero de pacientes en fase aguda; PGMK: línea celular de riñón de mono verde; SM cerebro de ratón lactante, Ts: Mosquito *Toxorynchites splendens*.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

A-5 Cepas de virus serotipo 3 empleadas en el análisis genético comparativo

Origen geográfico	Año	Cepa	Pases (historia)	No. GenBank
Fiji	1992	29472	C6/36-1	L11422
India	1984	1416	C6/36-1	L11424
Indonesia	1973	228761	Mosq.-1	L11425
Indonesia-a	1978	1280	C6/36-2	L11426
Indonesia-b	1978	1275	C6/36-?	.+
Indonesia	1985	85-159	C6/36-1	L11428
Malasia-a	1974	1300	C6/36-?	L11429
Malasia-b	1974	1301	C6/36-?	.+
Malasia	1980	26041	C6/36-2	.+
Malasia-a	1981	29586	C6/36-1	L11427
Malasia-b	1981	233	C6/36-1	.+
Mozambique-a	1985	1558	C6/36-1	L11430
Mozambique-b	1985	1559	C6/36-2	.+
Filipinas	1956	H-87	(C6/36; SMB)-35.++.	L11423
Filipinas	1983	168.AP-2	C6/36-?	L11432
Filipinas	1984	059.AP-2	C6/36-1	.+
Puerto Rico	1977	1340	C6/36-1	L11434
Puerto Rico	1963	PR6	SMB-13	L11433
Samoa	1986	1696	C6/36-1	L11435
Sri Lanka	1981	1326	C6/36-1	L11431
Sri Lanka	1982	1336	C6/36-?	.+
Sri Lanka	1982	1333	C6/36-?	.+
Sri Lanka	1983	1363	C6/36-?	.+
Sri Lanka-a	1985	1594	C6/36-1	L11436
Sri Lanka-b	1985	1586	C6/36-1	.+
Sri Lanka	1989	260698	C6/36-?	L11437
Sri Lanka-a	1991	2783	C6/36-1	L11438
Sri Lanka-b	1991	271242	C6/36-1	.+
Sri Lanka-c	1991	3171	C6/36-1	.+
Sri Lanka-d	1991	3198	C6/36-1	.+
Sri Lanka-e	1991	1863	C6/36-1	.+
Tahiti	1965	1327	C6/36-2	L11439
Taiti	1989	2167	Mosq.-1	L11619
Tailandia	1962	5987	C6/36-2	L11440
Tailandia	1973	CH3489D73-1	C6/36-?	L11620
Tailandia	1975	2051D75-279	C6/36-2	.+
Tailandia	1977	1308	C6/36-1	.+
Tailandia	1980	D80-260	C6/36-2	.+
Tailandia	1986	D86-007	C6/36-?	L11441
Tailandia	1987	MK315	C6/36-?	L11442

Abreviaturas. C6/36: línea celular derivada de larvas de *Ae. Albopictus*; Mosq: mosquito *Toxorhynchites*; SMB: cerebro de ratón lactante

XII. BIBLIOGRAFÍA

Barry J. Beaty, 2000, Genetic manipulation of vectors: A potential novel approach for control of vector-borne diseases, Commentary, PNAS, Vol. 97, No. 19.

Barry J. Beaty, William C. Marquardt, 1996, The Biology of Disease Vectors, University Press of Colorado.

Bhamarapavati, N., Sutee T., 2000, Live attenuated tetravalent dengue vaccines. Vaccine 18 (suppl.2): 44-47.

Black IV C.W., Bennett E.K, Gorrochotegui E.N. Barillas M.C., Fernández S.I., Muñoz L., Farfan A.J., Olso E.K., and Beaty J.B., 2002, Flavivirus Susceptibility in *Aedes aegypti*: A review, Arch. Med. Res., 33(4): 379-388.

Cuzzubbo A. J., Vaughn D. W., Nisalak A., Solomon T, Kalayanarooj S., Aaskov J., Dung N., Devine P., 2000, Comparison of PanBio Dengue Duo IgM and IgG Capture ELISA and Venture Technologies Dengue IgM and IgG Dot Blot, Journal of Clinical Virology 16:35-144

Chambers T.J., Hahn Ch.S., Galler R., Rice M.Ch., 1990, Flavivirus Genome Organization, expression and replication, Annu. Rev. Microbiol, 44: 649-688

Chaturvedi U. C., Agarwal R., Elbishbishi E.A. Mustafa A. S., 2000, Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis, FEMS Immunology and Medical Microbiology, 28, pp: 183-188.

Durbin A.P., Karron A., Son W., Vaughn W., Reynolds J. Perreault R., Thumar B., Men R., Lai Ch., Elkins R., Chanock M., Morphy R., and Whitehead S., 2001, Attenuation and Immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 Vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'-untranslated region, Am. J. Trop. Med. Hyg. 65(5), pp. 405-413.

Eckels K. H., Harrison R., Summers L., Ruseel K., 1980, Dengue-2 Vaccine: Preparation from a Small-Plaque Virus Clone, Infection and Immunity, Vol. 27, No.1, pp. 175-180.

Falgout, B., Pethel M., Zhang M., Lai J., 1991, Both nonstructural proteins NS2B and NS3 are required for the proteolytic processing of dengue virus nonstructural proteins. J. Virol., 65:2467-2475.

Fields Bernard N., 2000, Fields Virology, 4a. Ed., Lippincott Williams & Wilkins.

Fernández Salas Ildelfonso, 1999, *Biología y Control de Aedes aegypti*, Manual de Operaciones, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Frenk Mora Julio, Tapia Conyer Roberto, Melazque Monrroy Oscar, *Guía Práctica para el Diagnóstico y Manejo de Dengue Hemorrágico*

Gibbons V. R., Vaughn W. D., 2002, Dengue: an escalating problem, *BMJ*, Vol. 324, 1563-1566.

Gubler J. D., 2002, Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century, *TRENDS in Microbiology*, Vol. 10 No.2, 100-103.

Gubler J. D., 1998, Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, *Clinic Microbiol. Rev.*, 11, 480 – 496.

Gubler J. D., 2001, The President's Address, Prevention and Control of Tropical Diseases in the 21st Century: Back of the Field, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65(1), pp, V-XI.

Guzmán G.M., Kourí P. G., Bravo J., Soler M., Vazquez S., Morier L., 1990, Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 42(2), pp, 179-184.

Guzmán G.M., Kourí G., 2002, Dengue: an update, *The Lancet Infectious Diseases*, Vol.2, 33-42.

Halstead S.B., O'Rourke E. J., 1977, Antibody-enhanced dengue virus infection in primate leukocytes, *Nature*, Vol. 265, pp: 739-741.

Halstead S.B., 1988, Pathogenesis of Dengue: Challenges to Molecular Biology, *Science*, Vol. 239, pp: 476-481.

Harris E., Roberts G. Smith L., Selle J., Kramer D.L. Valle S., Sandoval E., Balmaseda A., 1998, Typing of Dengue Viruses in Clinical Specimens and Mosquitoes by Single-Tube Multiplex Reverse Transcriptase PCR, *Journal of Clinical Microbiology*, p. 2634–2639.

Hales S., de Wet N., Maindonald J., Woodward A., 2002, Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever; an empirical model, *The Lancet*, <http://image.thelancet.com/extras/01art11175web.pdf>

Holmes E.C., Burch S. S., 2000, The causes and consequences of genetic variation in dengue virus, *Trends in Microbiology*, Vol. 8 No. 2, 74-77.

Huang C. Y., Butrapet S., Peirro J., Chang J. Hunt R., Bhamarapavati N., Gubler J., Kinney M., 2000, Chimeric Dengue Type 2 (Vaccine Strain PDK-53)/Dengue type 1 Virus as a Potential Candidate Dengue Type 1 Virus Vaccine, *J. of Virology*, Vol. 74, No.7, p. 3020-3028.

Jelinek Tomas, 2000, Dengue Fever in International Travelers, *Clinical Infectious Diseases*, 31:144-7

Shuenn J., 2000, Human skin Langerhans cell are targets of dengue virus infection, *Nature Medicine*, Vol. 6, number 7, 816-820

Kliks S. C., Nisalak A., Brandt W.E., Wahl L., Burke D.S., 1989, Antibody-dependent enhancement of dengue virus growth in human monocytes as a risk factor for dengue hemorrhagic fever, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 40 (4), pp. 444-451.

Kuno G., J. Chang, Tsuchiya R. Karabatsos N. Bruce C., 1998, Phylogeny of Genus *Flavivirus*, *Journal of Virology*, Vol. 72, No. 1, p. 73-83.

Kuhn R. J., Zhang W., Rossmann G. M., Pletnev V. S., Corver J., Lensches E., Jones T.C., Mukhopadhyay S., Chipman R.P., Strauss G.E., Baker S.T., Strauss H.J., 2002, Structure of Dengue Virus: Implications for flavivirus Organization, Maturation, and Fusion, *Cell.*, vol 108, 717-725 March 8.

Lanciotti S.R., Calisher H.C., Gubler J.D., Chang J.G., Vorndam V.A., 1992, Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction, *Journal of Clinical Microbiology*, 545-551, Vol 30, No. 3

Lanciotti R.S., Lewis G.j., Gubler J.D., Trent D.W., 1994, Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses, *J. of Gen. Virology*, 75, pp. 65-75.

Lancet, Editorial, 1997, Dengue in the Americas-time to talk, Vol. 350, pag. 455, No. 9076.

Linares-Ruiz A., Cahour A., 1989, Processing of the yellow fever Virus polyprotein: role of cellular proteases in the maturation of the structural proteins, *J. Virol.* 63: 4199-4209.

Marianneau Ph., Flamand M., Deubel V., Despres Ph., 1998, Apoptotic cell death in response to dengue virus infection: the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever revisited, *Clinical and Diagnostic Virology* 10, 113-119.

Markoff L., 1989, In vitro processing of Dengue Virus Structural proteins: Cleavage of the pre-membrane protein, *J. Virol.* 63:3345

Martínez-Torres E., 1995, Dengue y Dengue Hemorrágico: aspectos clínicos. Salud Pública Méx.,37supl: 529-544.

McBride H. W., Bielefeldt-Ohmann H., 2000, Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology, Microbes and Infection, 1041-1050.

McMinn. C. P., 1997, The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviruses, J. of General Virology, 78, 2711-2722

Monath P.T., 1994, Dengue: The risk to developed and developing countries, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., Vol. 91, pp. 2395-2400.

Montesano C. Raúl, Ruiz M. Cuauhtemoc, 1995, Vigilancia Epidemiológica del Dengue en México, Salud Pública de México, 37 supl. Pp S64-S76.

Morens D. M. and Halstead. B., 1990, Measurement of antibody-dependent infection enhancement of four dengue virus serotypes by monoclonal and polyclonal antibodies, Journal of General Virology, 71, 2909-2914.

Narro R. José, Gómez D. Héctor, 1995, El Dengue en México: Un problema prioritario de Salud Pública. Salud Pública de México, 37 supl: 12-20.

Putman J., Scott T. W., 1995, Blood-feeding behavior of dengue-2 virus infected *Aedes aegypti*, Am. J. Trop. Med. Hyg. 52:225-227

Randolph, V.B., Winkler G. Stollar V., 1990, Acidotropic amines inhibit proteolytic processing of flavivirus prM protein, Virology, 174:450-458.

Reiter Paul, 1998, Global-warming and vector-borne disease in temperate regions and at high altitude, THE LANCET, Vol. 351, March 14, 1998, pg 839-841

Rey A.F., Heinz X.F., Mandl C., Kunz Ch., Harrison C.S., 1995, The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. Nature, Vol 375: 291-298.

Rice M.Ch., Lenches M.E., Eddy R.S., Shin J.S., Sheets L.R., Strauss H.J., 1985, Nucleotide Sequence of Yellow Fever Virus: Implications for Flavivirus Gene Expression and Evolution. Science, Vol 229:726-733.

Rico-Hesse R., Harrison L.M., Alba S.R. Tovar D., Niasalak A., Ramos C., Boshell J., R de Mesa T., Nogueira R., Travassos R.A., 1997, Origins of Dengue Type 2 Viruses Associated with Increased Pathogenicity in the Americas, Virology 230, 244-251.

Rico-Hesse R., 1990, Molecular Evolution and Distribution of Dengue Viruses Type 1 and 2 in Nature, *Virology* 174, 479-493.

Rigau Pérez José G., 1998, The early use of Break-Bone Fever (Quebranta Huesos, 1771) and Dengue (1801) in Spanish, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 59 (2), pp 272 – 274

Seah C.L., Chow V.T., Tan H.C., Can Y.C., Rapid, 1995, Single-step RT-PCR typing of dengue viruses using five NS3 gene primers, *J Virol Methods*, 51 (2-3):193-200

Watts M.D., Porter R.K., Putvatana P., Vasquez B., Calampa C., Hayes G.C., Halstead B.S., 1999, Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue hemorrhagic fever, *Lancet* , 354: 1431–34 .

White Nicholas J., 1999, Variation in virulence of dengue virus, *THE LANCET*, Vol 354, October 23, pag.: 1401-02

Zárate Aquino María, Del Río Zolezzi A, Gómez Dantes M.C., 1995, El Diagnóstico de Dengue en México: Actualidad y Perspectivas. *Salud Pública de México*, 37 supl. pp S21-S28.