

241 109



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

IMPORTANCIA DEL DENGUE EN AMERICA

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a:

MONICA RUIZ FLORES



México, D. F

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

1987



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 está 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.

I N D I C E

	Pág.
Introducción	1
1. Generalidades	
1.1 Definición	3
1.2 Sinonimia	5
1.2 Antecedentes históricos	5
2. Panorama Epidemiológico	
2.1 Distribución y Diferencias Geográficas	17
2.2 Importancia en Salud Pública	40
2.3 Prevalencia e Incidencia en México	43
2.4 Gravedad de la Enfermedad	45
3. Etiología	
3.1 Agente etiológico	47
3.2 Ciclo biológico	50
3.3 Transmisor	56
4. Diagnóstico	
4.1 Diagnóstico serológico y aislamiento del virus	62
4.2 Procedimiento para el cultivo y manejo de líneas celulares útiles en el diagnóstico del dengue	70

	Pág.
4.3 Diagnóstico y cuadro clínico	100
4.4 Diagnóstico clínico diferencial	102
4.5 Diagnóstico definitivo de casos de dengue	104
4.6 Inmunidad	105
5. Aspectos inmunológicos	
5.1 Anatomía Patológica	107
5.2 Pronóstico	107
6. Tratamiento	
6.1 Tratamiento	109
6.2 Vacuna del dengue	114
7. Control del dengue	
7.1 Medidas preventivas	116
7.2 Medidas de emergencia	118
7.3 Vigilancia del mosquito	124
7.4 Técnicas y equipo para la vigilancia del <u>Aedes aegypti</u>	125
7.5 Control	128
7.6 Protección personal contra los mosquitos	131
Resumen	136
Referencias bibliográficas	141

INTRODUCCION

La creciente incidencia de dengue, y especialmente su forma grave, F.H.D. (fiebre hemorrágica del dengue), en las regiones tropicales de Asia Sudoriental y Pacifico Occidental, -- han motivado la investigación sobre guías para el diagnóstico, vigilancia, tratamiento, prevención y control de la enfermedad, con el fin de dar una orientación práctica al tratar por primera vez casos de la enfermedad.

Durante los últimos veinte años aproximadamente se ha reconocido ampliamente que la F.H.D. plantea un problema de salud pública en el Asia Sudoriental y en el Pacifico Occidental, aunque el número de casos notificados ha aumentado en general y los países antes no afectados notifican ahora la F.H.D.; no está muy claro hasta que punto esto representa mayor percepción clínica, mejor notificación ó un verdadero cambio en la prevalencia de la enfermedad.

Es bien conocida la relación epidemiológica básica entre la prevalencia del mosquito Aedes, en especial A. aegypti, y la manifestación de la enfermedad del dengue, pero aún no se comprenden muchos aspectos fundamentales de la ecología de los virus del dengue que ocasionan la F.H.D.

Por estos motivos y como es bien sabido que las enfermedades transmitidas por el A. aegypti, pueden alcanzar proporciones

epidémicas, se ha considerado esencial establecer programas de vigilancia de la F.H.D. a nivel nacional e internacional en - áreas endémicas y receptoras.

CAPITULO I

1. DEFINICION.
2. SINONIMIA
3. ANTECEDENTES HISTORICOS.

1. DEFINICION.

El dengue es una enfermedad infecciosa transmisible de los países tropicales y subtropicales, producida por un arbovirus del grupo "B", siendo transmitida por un mosquito del género Aedes; particularmente A. aegypti. A. albopictus.

Se presenta comunmente en brotes endémicos y epidémicos que se manifiestan por fiebre, cefalea, mialgias, anorexia, dolores musculares, óseos, retro-oculares, abdominales y articulares, astenia, adinamia. Clínicamente esta enfermedad se puede presentar en tres formas conocidas como:

- a) Fiebre Clásica del Dengue (benigna) (F.C.D.)
- b) Fiebre Hemorrágica del Dengue (F.H.D.)
- c) Síndrome de Choque del Dengue (S.C.D.)
- a) Fiebre Clásica del Dengue (benigna) (F.C.D.)

Corresponde a la forma de presentación que existe actualmente en el Continente Americano; el cuadro clínico está integrado por presencia invariable de fiebre, cefalea, dolores - -

musculares, óseos y articulares intensos, exantema generalmente máculo-papular, ocasionalmente petequial, astenia, adinamia, - dolor retro-ocular ó linfadenitis que frecuentemente es retro-auricular o cervical.

Adicionalmente puede haber náuseas, vómito, diarrea, - manifestaciones hemorrágicas ligeras ó pasajeras consistentes - en epistaxis, hematemesis, melena y muy ocasionalmente hematuria.

b) Fiebre Hemorrágica del Dengue (F.H.D.)

Corresponde a la forma de presentación que estaba limitada hasta hace poco al sureste de Asia y Oceanía; el cuadro clínico está integrado por fiebre alta, manifestaciones hemorrágicas por aumento de la permeabilidad capilar, hepatomegalia, insuficiencia circulatoria por hipovolemia y hemoconcentración, originada por pérdida de plasma.

c) Síndrome del Choque del Dengue (S.C.D.)

Corresponde a la F.H.D. que llega al estado de choque; el cuadro clínico está integrado por fiebre de inicio agudo, - elevado continuo y con duración de 2 a 7 días, manifestaciones hemorrágicas (prueba del torniquete francamente positiva), petequias, equimosis, epistaxis, gingivorragia, hematemesis y/ó melena, hepatomegalia, pulso rápido, débil, piel húmeda, fría y agitación.

2. SINONIMIA.

Fiebre Dandy (esp.), Fiebre del Trancazo (esp.), Fiebre Rompehuesos (esp.), Fiebre Quebradora (esp.), Dandy Fever (ing.), Break Bone Fever (ing.), Denguero (ital.), Enfermedad de los Dátiles (egip.), Fiebre Articular (egip.), Fiebre de las Jirafas (egip.), Fiebre de 5 días (egip-esp.), Fiebre de 7 días (egip.), Fiebre Solar (egip.), Fiebre Roja (egip.), Fiebre de Huesos Rotos (esp.).

3. ANTECEDENTES HISTORICOS.

La primera descripción del dengue fué hecha en Batavia (Isla de Java) por Bilone, en el año de 1779, quién la describió con la denominación de "fiebre articular".

Mientras Hirsch da el crédito para la primera mención de la enfermedad a Gaberti quien describe una enfermedad con ciertas semejanzas al dengue, que asoló al Cairo en 1779; sin embargo, Rush bajo la designación de "fiebre quebrantahuesos", describe una verdadera epidemia de dengue en Filadelfia en 1780.

Durante el siglo XIX y lo que va del XX se han descrito importantes epidemias de esta enfermedad en diferentes países cálidos y tropicales.

La denominación de "dengue" para designar esta enfermedad fué acordada por el Real Colegio de Médicos de Londres.

Gaberti estuvo particularmente impresionado con la complicación que se presenta en la rodilla, por lo que su descripción de la enfermedad fué conocida como "enfermedad de las rodillas"; la caracterizó por el dolor de huesos principalmente y ante todo el de la rodilla, ya que éste era el síntoma más comentado por los nativos egipcios en la recaída de la fiebre.

Beylon, notificó en 1780 una enfermedad epidémica en Batavia, estableció que todos fueron atacados y que el cuadro clínico consistió en dolor de cabeza, lassitud, dolores articulares, él notó que esta epidemia no dejaba secuelas, ya que los pacientes se sobreponían en tres días bajo dieta moderada.

En 1898 Hare y cols., describieron la enfermedad fatal en 30 niños australianos que contrajeron la enfermedad en 1897 en la epidemia del dengue en Quensland (1), los signos y síntomas descritos en estos pacientes sirvieron como una descripción clásica de la F.H.D..

Bancroft en 1906 propuso por primera vez la hipótesis de que el dengue era transmitido por el mosquito Aedes aegypti. la que fue corroborada en 1907 por Ashburn y Craig quienes demostraron que esta enfermedad es producida por un virus; en 1916 Cleland y cols. demostraron fehacientemente que la enfermedad es transmitida por el mosquito Aedes aegypti.

Se han descrito epidemias de dengue y enfermedades parecidas al dengue en intervalos frecuentes en el hemisferio oeste; en este siglo ocurrieron epidemias en 1904, 1915, 1922, 1931, 1941, 1949, 1950, 1963, 1964, 1968, 1969, 1971, 1972 y 1973. Estas epidemias hasta 1960 habían sido limitadas a la región del

Caribe. la proporción del ataque algunas veces fué muy alta - excediéndose a veces del 70-80% (Tabla No. 1).

En 1927 fueron notificadas 50 muertes aproximadamente - en 50,000 casos que se presentaron en Durban, sur de Africa (2). En Grecia se registra cada año una epidemia de dengue, pero la epidemia más grande que ha sido registrada fué en 1928 en la - que se reportaron 1,200 muertes de aproximadamente 800,000 casos (3), la sintomatología y cuadro clínico de esta fatal epidemia no fué uniforme ya que no se presentó un cuadro clínico definido para poder establecer si se trataba del S.C.D o de la F. H.D. (4, 5).

En 1928 ocurrió una epidemia en Atenas y mediante estudios serológicos retrospectivos (6), se encontraron evidencias que sugieren que se trató del virus del dengue tipo I y II, se destaca la excesiva frecuencia de síntomas hemorrágicos y formas cardíacas.

El término de fiebre hemorrágica del dengue fué usado -- inicialmente por investigadores soviéticos y japoneses para describir una enfermedad de una presunta etiología viral, la cual fué reconocida en los años de 1930 en Manchuria y en el lejano este de Siberia (7).

Algunos investigadores japoneses describen una entidad - clínica, parecido al dengue que atacó en 1931 a algunos niños de Formosa (8).

Las investigaciones acerca de esta enfermedad no han sido definitivas en la mayoría de las ocasiones ya que se ha fracasado en el aislamiento y caracterización del agente causal. Esta fiebre hemorrágica ha sido descrita como una enfermedad producida por la inoculación de un arbovirus del grupo "B" (9, 10).

Subsecuentemente el término de síndrome fué reconocido - en la India y se encontró que pudo ser causado por un virus que se encuentra relacionado con el agente de la fiebre hemorrágica (11).

Poco después los soviéticos relacionaron los términos nefrosonefritis y fiebre hemorrágica con síndrome renal para estas enfermedades, mientras que los japoneses y coreanos retenían el nombre de "Fiebre Hemorrágica Epidémica". Este término empezó a usarse en Corea por investigadores americanos que estudiaban este síndrome en los años de 1950 (12).

En 1950 se descubrió el síndrome de la fiebre hemorrágica en dos nuevas regiones geográficas del globo; el sureste de Asia y en América del Sur (13, 14).

En base a estudios realizados en 1950 llegó a conocerse que los arbovirus, del grupo A como del B se asocian para generar

rar este síndrome.

Todo esto incrementó el interés de investigadores de -- otros países para conducirlos a reforzar las primeras investigaciones realizadas en el sureste de Asia. Esto dió como resultado numerosas investigaciones las cuales fueron expuestas en dos simposios (15, 16, 17, 18); y otros boletines que junto con los simposios han dado una amplia descripción de estudios recientes de la picadura del mosquito. (19, 20, 21, 22) Estos estudios se -- llevaron a cabo en el departamento de Virología de la Escuela Pública de Investigaciones Médicas de la Salud de SEATO (SMRL) en Bangkok, Tailandia.

La primera descripción de esta enfermedad fué publicada en 1953 en el sur de Asia, para describir una epidemia del serotipo III y IV del virus del dengue observada en niños filipinos (23, 24).

En el Continente Americano el término de fiebre hemorrágica fué usado por Arribalzaga en 1953 (25, 26, 27, 28) al reportar el estudio de una epidemia en una área de clima subtropical (29, 30, 31).

Hammon y Cols., aislaron los serotipos II, III, IV del virus del dengue en niños que habían sido hospitalizados en Manila con esta enfermedad (32). Estos investigadores también aislaron el virus del dengue en el mosquito Aedes aegypti silvestre -- por primera vez.

En 1958 esta enfermedad fué tanto etiológicamente como -clínicamente relacionada con la fiebre hemorrágica de Filipinas (32) en ese mismo año se reportó una epidemia de fiebre hemorrágica del dengue en el norte de Vietnam (33); desde entonces el -serotipo II del virus del dengue es el más frecuentemente rela--cionado con casos hemorrágicos y de choque (34), lo que se con--firmó durante las epidemias del Pacífico sur, Polinesia, Fidji, Nueva Caledonia, Tahití, Tonga, etc. (35, 36).

Se comprobó que esta enfermedad es definitivamente tempo--ral, se presenta en los climas templados, generalmente ocurre de Marzo a Julio (27, 37), este intervalo comprende el período de -la cosecha de maíz de la región afectada y esta enfermedad siem--pre tiene mayor incidencia en hombres adultos, principalmente en campesinos (38).

En 1960 se reportó una epidemia en el sur de Vietnam (39 en Singapur y Malaya durante 1962 (40, 41); en Calcuta, India en 1963 (17); exceptuando la epidemia de Vietnam del sur y la de --Calcuta, todas las otras epidemias ocurrieron en grandes áreas.

En 1963 se iniciaron investigaciones sobre la fiebre ha--morrágica de Bolivia (F.H.B), en el área de San Joaquín Beni dor de esta enfermedad atacó y prevaleció por un año (42).

En nuestro país se alcanzó la total erradicación del mos--quito Aedes aegypti en 1963.

Tal erradicación fué certificada por la Oficina Regional de la O.M.S., sin embargo, en junio de 1965 se descubrió la reinfestación en la frontera norte (Nuevo Laredo, Tamaulipas), para después extenderse a diversos Estados del noreste del país (43).

En 1977 se descubrieron las primeras reinfestaciones en Estados de la frontera sureste de México, afectando posteriormente a las planicies de los Estados del litoral del Golfo de México, Península de Yucatán y el sur del litoral del Pacífico.

A la mitad del año de 1977 en México se tuvo conocimiento de que en la Habana, Cuba se desarrolló una importante epidemia del serotipo I del virus del dengue que se estimó en 60,000 casos. Posteriormente la epidemia se difundió a Centroamérica -- llegando a México a finales de 1978 reintroduciéndose por Tapachula, Chiapas, Chetumal, Quintana Roo, extendiéndose después a la costa de Chiapas, región istmica, Estados del litoral del -- Golfo de México y Península de Yucatán (44); así como a las ciudades fronterizas de Guatemala y Belice.

En 1978 Puerto Rico notificó más de 10,000 casos de infección de tipo dengue, el aumento de la transmisión del dengue durante la estación de lluvias, que comenzó el 18 de septiembre, podría ocasionar un mayor número de casos, no se ha notificado ningún brote importante en las otras islas mayores del Caribe.

Como se sabe el virus del dengue serotipo IV estaba confinado al sureste asiático, islas del sur del Pacífico y Asia er

donde se reportaba el mayor número de casos graves, las evidencias serológicas obtenidas de los casos ocurridos en turistas norteamericanos que visitaron San Bartolomé; confirman el temor de la introducción de otro tipo de dengue en las Américas. No debe descartarse la posibilidad de que la epidemia se extienda a otras islas del Caribe, de ahí a Centroamérica y posteriormente a México, como ocurrió con la epidemia del virus del dengue serotipo I, que afectó al país desde 1978.

Al finalizar 1980 se verificó la presencia del vector hasta una altitud que no sobrepasa los 1000 m. de a. sobre n.m. en el noreste de los Estados de Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, las regiones denominadas Huastecas de San Luis Potosí e Hidalgo, costa de Veracruz, Campeche, Yucatán, Chiapas, Oaxaca y focos incipientes de 5 localidades de Sinaloa, Nayarit y Guerrero.

En 1981 la Organización Panamericana de la Salud envió a su Oficina Regional de México un cable en donde se notificaban aproximadamente 79,000 casos cubanos ocurridos entre el 29 de mayo hasta el 28 de junio, de los cuales 61,000 casos procedían de la provincia y ciudad de la Habana. Otras provincias con afectación significativa fueron Cienfuegos y Olguín con 6,000 y 4,000 casos respectivamente. Se registraron 31 fallecimientos (26 niños y 5 adultos), por choque y cuadro hemorrágico. El virus fue

identificado por pruebas de inmuno fluorescencia y de neutralización por reducción en placas, realizadas en el Instituto de Medicina Tropical y en el Instituto de Higiene Epidemiológica y Microbiológica, como serotipo II, distinto del circulante en la epidemia de 1977-1978 (serotipo I).

El 5 de julio de 1981, el Centro pasa el Control de las Enfermedades (C.D.G) de Atlanta, E.U.A. (45), notificó dos casos de dengue serotipo IV, en turistas que regresaban de San Bartolomé (territorio francés en el Caribe) (46), las autoridades francesas confirmaron una enfermedad muy similar al dengue que ocurrió entre la población de San Bartolomé, San Martín y Guadalupe pero el tipo serológico del virus era desconocido. Más de 100 casos de una enfermedad semejante al dengue fueron notificados por Dominica y de 35 especímenes examinados hasta el 19 de junio, 31 fueron positivos para dengue, de los cuales 16 fueron del serotipo IV. La identificación inicial fué hecha por el Centro Epidemiológico del Caribe (CAREC), y posteriormente por el Centro de Control de Enfermedades (47).

El 13 de junio, la agencia Reuter, a través de un periódico de Trinidad, informó sobre una enfermedad como dengue en Cuba, la representación de OPS, en Cuba reportó una nota de periódico con relación a una enfermedad parecida al dengue diferente al de la epidemia de 1977-1979.

En 1981 el Centro de Epidemiología del Caribe (CAREC) -- anunció el aislamiento del virus del dengue serotipo II de un residente de Trinidad, Tobago, el cual nunca había abandonado Trinidad. Ese mismo año el serotipo II fué reportado por el Ministerio de la Salud en Cuba como responsable de una epidemia de dengue y de fiebre hemorrágica del dengue en ese país.

El Ministerio de la Salud de Cuba reportó a la Organización Panamericana de la Salud (PAHO), que la epidemia del dengue serotipo II continuaba en declinación en ese país. Durante esta epidemia se reportaron sobre 300,000 casos de dengue de los cuales 99 de ellos eran niños.

La Organización Panamericana de la Salud ha hecho llegar a la Dirección General de Epidemiología, a través de la Unidad de Asuntos Internacionales de SSA., el siguiente cable: Cuba notificó la ocurrencia de 227 casos de dengue con 149 defunciones, epidemia hasta el 20 de agosto de 1981. Alrededor de 100 casos nuevos fueron registrados hasta el 19 de agosto. Epidemia continúa declinando, serotipo II sigue siendo el único detectado en esta epidemia".

No se tiene conocimiento de que la epidemia cubana se haya extendido a otros países del Caribe y Centroamérica. Se reitera la necesidad de extremar las precauciones de vigilancia en: - frontera de México con Guatemala y Belice, los aeropuertos internacionales de la Península de Yucatán y estados del Golfo y los puntos mexicanos del Caribe y del Golfo. Dado que la epidemia --

continúa declinando es de suponer que el mayor riesgo ha pasado, pero sigue latente y se prolongará durante los periodos epidémicos de los próximos años.

Dos casos de dengue del serotipo IV han sido confirmados por los técnicos de sero diagnóstico en dos turistas norteamericanos de Illinois y Virginia, que visitaron la Isla de San Bartolomé, en donde aparentemente se ha presentado una epidemia de -- dengue serotipo IV durante los meses de febrero y marzo de 1981.

En Reynosa, Tamps., en marzo de 1981 se llevó a cabo un taller de trabajo bajo los auspicios de la Jefatura de los Servicios Coordinados de Salud Pública, del Estado de Tamaulipas con la colaboración de la Oficina de Campo (OPS), tuvo como principal objetivo analizar el brote epidémico ocurrido en 1980 en el propio Estado de Tamaulipas, así como en Nuevo León, Coahuila y Texas E.U.A., esta información fué presentada por los jefes estatales de salud correspondientes.

TABLA N° 4.

REPORTE DE CASOS O SOSPECHAS DE BROTES DE DENGUE EN EL AREA DEL CARIBE 1960 - 1973														
	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1969	1970	1971	1972	1973
BARBADOS	(P)	...	-	-	-	-
COLOMBIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(P)	(P)	...
REP. DOMINICANA	494	821	822	350	407	527	-	16	-	3	-	...
HAITI	(P)	3	49
JAMAICA	-	-	-	1578	156	36	6	6	367	545	31	14	4	3
VENEZUELA	56	-	-	-	18306	4040	7750	1330	383	3917	405	5	25	-
ANTIGUA	-	-	-	-	264	8	-	-	179	-	-	-
BAHAMAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DOMINICA	-	2	43	-	...	-	41	-	-	-	-	-
GUAYANA FRANCESA	(P)	(P)
GRANADA	81	15	27
GUADALUPE	(P)	-
MARTINICA	(P)	(P)	-	-	...
MONTSERRAT	-	-	-	-	-	-	-	-	(P)
PUERTO RICO	-	-	-	25737	2440	93	2	1	-	16665	136	15	85	658
SANTA LUCIA	-	(P)	-	-	-
SAN VICENTE	-	-	-	-	-	-	-	...	(P)	-	-	-	-	-

- No hay casos

... No hay transmisión

(P) Brote o reporte de la presencia de una enfermedad semejante al dengue.

C A P I T U L O I I

1. DISTRIBUCION Y DIFERENCIAS GEOGRAFICAS.
2. IMPORTANCIA EN SALUD PUBLICA.
3. PREVALENCIA E INCIDENCIA EN MEXICO.
4. GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD.

1. DISTRIBUCION Y DIFERENCIAS GEOGRAFICAS.

La fiebre del dengue está muy extendida particularmente en los países situados en las zonas tropicales y subtropicales, en las que existe el agente transmisor Aedes aegypti; también - existe en los estados meridionales de los E.U.A. como Texas, -- Nuevo México, Arizona, California, Florida y otros (48, 49, 50).

En mesoamérica se observa la enfermedad en México, Honduras, Costa Rica, Panamá y otros países, así como en las Islas del Mar Caribe y Brasil. En la Cuenca del Mar del Coral (Islas de Nuevas Hébridas). También se ha presentado en Queensland - - (Australia), Indonesia, los puertos del sur de Japón, las Islas Filipinas, la India, en la República Arabe Unida (Egipto) (51), en la República Arabe de Siria, Sudán, Líbano, Arabia Saudita, Grecia, la Isla de Creta y en el sur de España; (52, 53).

Se ha informado que el virus del dengue se distribuye - frecuentemente entre las latitudes 25°N y 25°S. (54, 55).

Se encontró una evidencia serológica del virus del dengue en el periodo donde fué endémico pero el número de los diferentes tipos del dengue era desconocido (56, 57); que sugiere que la F.H.D. es endémica en áreas urbanas de Tailandia, Vietnam, Filipinas, Singapur-Malaya.

En 1963 en San Joaquín una población de aproximadamente 3,000 personas situado a 2 Km. del este del Río Machupo en la provincia de Mamore, Departamento de Beni (Bolivia); empezó a extenderse un brote epidémico a la porción norte del pueblo (51), la proporción del ataque de esta enfermedad fué más alta en hombre adultos que en otros grupos, se estima un total de 637 casos durante el ataque y se vió que aparecían nuevos casos en cada mes.

El dengue ha persistido como una enfermedad endémica en Puerto Rico y en otras áreas adyacentes al Caribe, como epidemias ocasionales a través de esta región. La epidemia más grande que ha ocurrido recientemente en esta región sucedió en Colombia en 1972 aproximadamente con medio millón de casos.

En Puerto Rico han habido epidemias en 1963 donde se reportaron más de 27,000 casos (52), en 1969 y 1975 ocurrieron otras menores: 16,665 y 1,285 casos respectivamente (53, 54); de gran interés fué la notificación de algunos casos observados en Puerto Rico en los últimos meses de 1975 que fueron definidos como F.H.D. el tipo grave de esta enfermedad que no se había reportado previamente en esta área.

Es probable que las epidemias ocasionales del dengue en las Islas del Pacífico del sur hayan resultado de la importación de un caso o casos durante el período de incubación y la infección consiguiente de los mosquitos locales.

En el Golfo de México, Península de Yucatán y vertiente del sur del Océano Pacífico, se ha identificado el vector en las regiones costeras, los índices de infestación actuales, después de haber aplicado medidas de ataque durante 1979 son inferiores al 5% en Quintana Roo, Oaxaca, Veracruz y la capital de Campeche; y superiores en Yucatán y Chiapas.

Los estudios entomológicos realizados hasta 1982 no demostraron infestación en los estados de la vertiente norte del Océano Pacífico, desde Guerrero hasta Sonora incluyendo los de la Península de Baja California, sólo en el Puerto de Acapulco se había detectado infestación reciente, en la actualidad se ha detectado no sólo el transmisor sino numerosos casos de dengue clásico en toda esta región, e incluso F.H.D.

El padecimiento penetró por la frontera del sureste, conociéndose los primeros casos en diciembre de 1978 en Tapachula y Huixtla, Chis., en enero de 1979 se presentaron casos en Tonala y en marzo del mismo año en Arriaga, Chis., (TABLA No. 2); - afectando además otras localidades del área costera del estado; en abril se reportaron casos en la región itsmica del estado de Oaxaca; en junio se presentaron en el sur del estado de Veracruz

y en septiembre se propagan al norte de la entidad, afectando toda la costa; en octubre se notifican casos en el sur de Tamaulipas y en la Huasteca Potosina.

En la Península, los primeros casos se reportaron en Chetumal, Quintana Roo en abril de 1979, después, otros más, de las localidades costeras, incluyendo Isla de Mujeres y Cozumel, fué hasta septiembre cuando se notifican los primeros enfermos de Mérida, Yucatán.

De los estados de la frontera norte infestados por Aedes aegypti sólo Tamaulipas notificó dengue de la semana 42 a 49 de 1979 reportó 24 casos de las localidades Tampico, Ciudad Madero y Altamira.

A partir del último caso notificado, es de admitirse que se interrumpió la transmisión del padecimiento, ya que los índices de infestación empezaron a abatirse por descenso de la temperatura y saturación de la humedad ambiental de diciembre a marzo en que los índices de densidad larvaria descendieron a menos del 4%.

En total durante 1979 se notificaron en el país 5731 casos, de 76 localidades de 9 estados, con infecciones locales en Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Tamaulipas, San Luis Potosí, Yucatán, Quintana Roo. (TABLA No. 3).

Durante el primer semestre de 1980 la transmisión ha permanecido en bajos niveles en los estados de Oaxaca con 85 casos,

Quintana Roo con 9 casos, Yucatán con 31 casos, Veracruz con 16 casos, Tamaulipas con 4 casos, San Luis Potosí con 2 casos; en Chiapas se registró una elevación epidémica a partir del mes de abril, siendo particularmente afectadas Tuxtla Gutiérrez y Tapachula con 213 casos.

Del estado de Veracruz sólo se ha recibido notificación de 16 casos de 9 localidades incluyendo tanto la parte sur como la parte norte del estado.

La región Huasteca del estado de San Luis Potosí empezó a afectarse desde las últimas semanas del mes de junio, habiendo sido notificados hasta la semana 34 un total de 1,138 casos.

Se tiene conocimiento de una elevación epidémica en Huajuapamula, Hgo., (Huasteca Hidalguense) pero se desconoce su magnitud.

En el norte del país, las primeras notificaciones del estado de Tamaulipas se iniciaron en Tampico desde el mes de enero, presentando una alza epidémica a partir del mes de junio para acumular un total de 353 casos hasta la semana 35.

En el resto del estado fueron afectados con gran intensidad Ciudad Mante y Xicotencatl quienes han notificado 1,528 casos. La capital del estado, Ciudad Victoria, inició su registro de casos en la semana 27 para acumular un total de 235 hasta la semana 33.

No se ha destacado transmisión local en Nuevo Laredo, - Reynosa y Matamoros.

En el estado de Nuevo León ha sido afectada con transmisión la ciudad de Monterrey, con un registro de 236 casos hasta la semana 36, la cual no se ha generalizado, existe escasa transmisión en Linares y Cadereyta y no se ha detectado en Sabinas.

En cuanto al estado de Coahuila sólo se han reportado casos importados en Piedras Negras y Monclova.

De la semana 27 a la 52 de 1980 se registró una alza en los estados de Coahuila con 2,904 casos, Chiapas con 2,413 casos, Nuevo León con 2,145, Yucatán con 4,145 casos y San Luis Potosí en 1,973 casos.

En este segundo semestre de 1980 también se registraron casos pero en menor escala en los estados de Campeche, Hidalgo, Morelos, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Tamaulipas; con 33, 225, 1, 1,015, 396, 2, 3,206, respectivamente.

En total hasta el año de 1980 se notificaron 5,788 casos, en 85 localidades de 9 estados, con infecciones locales en Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Tamaulipas, San Luis Potosí, Yucatán, Quintana Roo e importados en Tabasco y Campeche. (TABLA No. 4).

En cuanto al estado de Chiapas se notificaron 3,202 casos hasta 1979 que equivalen al 56% del total del país; la endemia ha registrado su mayor intensidad en la jurisdicción sanitaria de Tapachula, donde se ha notificado el 87% de los casos --

del estado quedando distribuido el 13% restante en las jurisdicciones de Tonalá y Arriaga.

Los municipios más afectados son: Tapachula, Mazatlán, - Huixtla, Tonalá donde se ha registrado el 64%, 9%, 8% y 8% respectivamente del total de la entidad quedando el 1% restante, -- distribuido en otros 8 municipios.

Según fuente de notificación de los casos el 87% fué reportado por el Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.); el 3% por el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (I.S.S.S.T.E.); y el 10% restante, por unidades de la Secretaría de Salubridad y Asistencia (S.S.A.) tomando como referencia datos suministrados por el I.M.S.S. la tasa de ataque según diferentes unidades aplicativas, ha revelado valores comprendidos entre .1 (I.M.S.S. Chapultepec) y 5.4 -- (I.M.S.S. Mazatlán).

En el estado de Tabasco aún no se ha detectado infestación por el vector, la capital del estado de Campeche registró positividad al Aedes aegypti a partir de la semana 41 de 1979 -- con un índice larvario en casos menor del 5%. Ambas entidades no han registrado infecciones locales de dengue.

En el año de 1981 se registró una epidemia en Yucatán -- con 1,820 casos; asimismo se registraron casos en los estados de Campeche, Coahuila, Chiapas, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, con 52,

59, 351, 5, 39, 154, 365, 118, 6, 258, 449 casos respectivamente.

La cifra de casos notificados seguramente es inferior a -- los realmente existentes, ya que una encuesta realizada a través de un cuestionario y conducida por los Drs. Helinda Moore y Donald A. Eliason, epidemiólogos del Centro para Control de Enfermedades en Atlanta, Ga., se evidenció que de los enfermos que manifesta-- ron haber padecido un cuadro clínico que pudiera diagnosticarse -- como dengue, el 44.5% si acudió al servicio médico para su aten-- ción, el 40% no lo hizo, en el 15.5% no se obtuvo el dato.

También es de admitirse que un escaso porcentaje de casos notificados, no corresponden realmente a enfermos de dengue, ya -- que no se comprobó serológicamente el total de ellos.

El problema aumentó en 1982, registrándose 32,640 casos, con tasa de 45.81 por 100,000 habitantes afectando a 19 entidades: las mayores fueron registradas en Veracruz, Baja California Sur, Colima, Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Sinaloa, Tabasco y Yucatán oscilando entre 104.7 y 229.4 por 100,000 habitantes (TABLA No.5

El período de mayor incidencia fué durante las semanas 2 a la 52 (cuarta de junio hasta diciembre), (TABLA No. 6) y sólo las entidades de Guerrero, Veracruz y Yucatán notificaron todo e año.

En 1983, el número de estados afectados aumentó a 23 tot-- lizando 23,510 casos y tasa de 32.46 por 100,000 habitantes.

Los estados con tasas más altas fueron: Chiapas, Guerrero, Oaxaca y Puebla, con 154.1, 153.4, 148.7 y 127.1 por - - - 100,000 habitantes respectivamente. (TABLA No. 7).

Se hace notar la magnitud del problema en otras áreas como Baja California Sur (228 casos), Sonora 1,440 casos y Sinaloa con 1,786 casos.

Los brotes del dengue más importantes registrados en 1983 ocurrieron en el estado de Puebla: Acatlán de Osorio, Chiautla de Tapia e Izucar de Matamoros; en el estado de Morelos: Axoxhiapar en Sinaloa: Guamuchil y Navolato; Sonora: Guaymas; Hidalgo: Huguajutla; Michoacán: Tuzantla, Arroyo Seco y Melchor Ocampo y en -- Guerrero: Zihuatanejo.

En 1983 fué confirmada la existencia de los serotipos 2 y 4 en el país, en Zihuatanejo, Guerrero y Oaxaca (Salina Cruz : Santiago Astata) respectivamente.

Se pudo documentar la transmisión del dengue en 23 estados de la República durante 1983, se contactó que la superficie teórica afectada corresponde a menos del 10% del área geográfica del país observándose un promedio mayor en el periodo de mayo a noviembre (TABLA No. 8).

En 1984 el número de estados afectados fué de 24 con un total de 27,331 casos con una tasa de 35.22 por 100,000 habitantes.

Los estados más afectados fueron Baja California Sur, Nayarit, Yucatán, Sonora y Quintana Roo; con una tasa de 626.7, - - 481.42, 474.75, 299.32, 249.91 por 100,000 habitantes respectivamente.

Si bien en 1983 se había observado una tendencia descendente en 1984 nuevamente aumentó, aunque el número de entidades afectadas sólo aumentó en una con respecto a 1983. La variación estacional de los casos notificados, ha coincidido con los índices de infestación más altos del vector (julio a octubre) que corresponden a la vez con la época de más lluvias. Los meses de menor incidencia fueron de enero a junio y noviembre a diciembre, corresponden a la época seca y fría lo que limita la reproducción del Aedes, disminuyendo con ello la población adulta y consecuentemente la transmisión del dengue.

Durante los dos primeros trimestres de 1984 se reportaron 2,007 casos en 18 entidades federativas de ellas las más afectadas son: Colima, Quintana Roo, Yucatán, Nayarit, Guerrero, Sinaloa y Oaxaca, para este período la notificación semanal que se efectúa en las diez ciudades con monitoreo específico mostró que la actividad del dengue persistía en Tuxtla Gutiérrez y Tapachula, Chiapas; Mérida, Yucatán y Acapulco, Guerrero que se había mantenido baja en Chetumal, Mazatlán, Veracruz y Monterrey y que había sido nula en Matamoros y Tampico, Tamaulipas.

A partir del inicio del tercer trimestre, los casos notificados se incrementan en forma importante acumulándose hasta el cuarto trimestre 27,331 casos distribuidos en 24 estados que representan el 75% del total notificado hasta esta fecha (TABLA No. 9).

En este periodo las entidades más afectadas fueron: Yucatán con 3,789 casos y tasa 331.5 por 100,000 habitantes; Jalisco con 2,597 casos y 55.37 de tasa; Sonora con 2,488 casos y tasa de 150.75; Nayarit con 2,366 y tasa de 294.7 y por último Guerrero con 2,060 casos que representa la tasa de 85.69; estos cinco estados acumulan el 82.95% del total de casos notificados.

Durante este año se han presentado varios brotes de dengue en el país, los más importantes en la costa del Pacífico y Yucatán.

Se iniciaron en Nayarit en el mes de junio en las localidades de Santiago Ixcuintla, Ixtlán del Río, San Juan de Abasco Tuxpa y las Veras; en Jalisco se presentaron en Puerto Vallarta y Tomatlán; posteriormente en Colima y Guerrero, en julio y agosto se presentó un brote en Yucatán que a la fecha ha reportado 3,789 casos (semana 40) y las localidades afectadas son: Mérida, Vacahunuema, Motul, Cenotillo, Buetzatz, Acanech, Temay, Singche, Progreso, Tzemul, Seye Tunkes y Halacho. (TABLA No. 10).

Hasta la semana 22 de 1985 el número de estados afectados fué de 18 con un total de 1,416 casos, los estados más afect

tados fueron: Jalisco, Nayarit, Michoacán, San Luis Potosí y Guerrero. (TABLA No. 12).

T A B L A N ° 2.

CASOS DE DENGUE EN EL ESTADO DE CHIAPAS EN EL AÑO DE 1979.

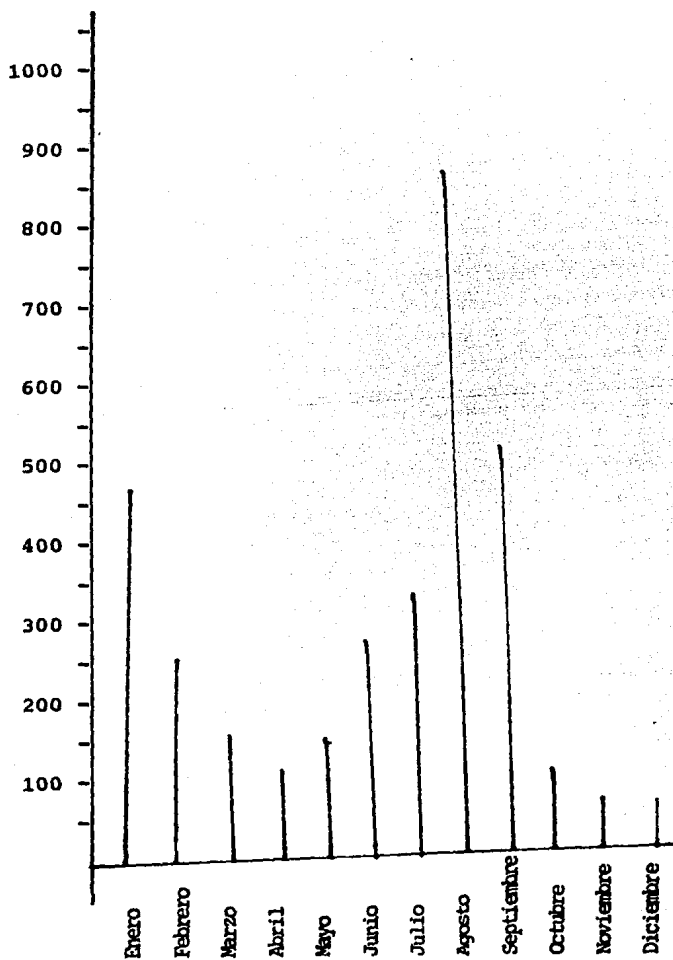


TABLA N° 3.

NOTIFICACION DE CASOS POR ENFERMEDAD TIPO DENGUE
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
1984

No.		No. de Casos	Tasa
1	BAJA CALIFORNIA SUR	12	.2
2	CAMPECHE	2	2.7
3	COLIMA	7	.5
4	CHIAPAS	6	3.8
5	DURANGO	1	12.5
6	GUERRERO	98	.2
7	MICHOACAN	103	.3
8	NAYARIT	38	.2
9	NUEVO LEON	1	27.7
10	OAXACA	108	.3
11	PUEBLA	35	1.0
12	QUINTANA ROO	33	.1
13	SAN LUIS POTOSI	1	18.2
14	SINALOA	161	.1
15	SONORA	1	-. -
16	TABASCO	10	1.3
17	TAMAULIPAS	3	7
18	VERACRUZ	149	.4
19	YUCATAN	132	.1
10	HIDALGO	17	16.5
	TOTAL	900	.8

* tasa por 100,000 habitantes

TABLA N° 4.

CASOS REPORTADOS DE DENGUE EN LOS
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
1979-1980

ESTADOS	1979	1980	DATO DEL PRIMER REPORTE.	
CHIAPAS	3277	1332	27/II/78	semana 48
OAXACA	1134	624	19/III/79	semana 12
VERACRUZ	458	37	25/VI/79	semana 26
TAMAULIPAS	31	3804	15/X/79	semana 42
SAN LUIS POTOSI	20	1498	22/X/79 (c)	semana 43
QUINTANA ROO	433	192	16/II/80 (d)	semana 25
YUCATAN	831	1140	9/IV/79	semana 15
CAMPECHE	1 (b)	0	3/IX/79	semana 36
TABASCO	2 (b)	0	-----	-----
NUEVO LEON	0	2760	-----	semana 30
COAHUILA	0	4545	21/VII/80	semana 32
HIDALGO	0	148	4/VIII/80	semana 3
ORELOS	0	1 (b)	11/VIII/80	-----
TOTAL	6187	16081		

- A) Arriba de 40 semanas
 B) Casos importados
 C) Empezó en la primera epidemia
 D) Empezó en la segunda epidemia.

TABLA N ° 5.

DISTRIBUCION DE CASOS DE DENGUE
NOTIFICADOS SEGUN ENTIDAD FEDERATIVA
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
1982

ESTADOS	CASOS
BAJA CALIFORNIA SUR	380
COLIMA	395
CHIAPAS	643
GUERRERO	4722
HIDALGO	29
MICHOACAN	3669
NAYARIT	84
OAXACA	2956
PUEBLA	422
QUINTANA ROO	117
SAN LUIS POTOSI	627
SINALOA	1579
TABASCO	1157
TAMAULIPAS	74
VERACRUZ	12760
YUCATAN	1296
CAMPECHE	4

TABLA N° 6

CASOS NOTIFICADOS EN 1982

CASOS DENGUE

ENERO	494
FEBRERO	263
MARZO	167
ABRIL	78
MAYO	126
JUNIO	1600
JULIO	3980
AGOSTO	6617
SEPTIEMBRE	8125
OCTUBRE	5066
NOVIEMBRE	3929
DICIEMBRE	2195
TOTAL CASOS DE DENGUE	32400

TABLA N° 7.

DISTRIBUCION DE CASOS DE DENGUE NOTIFICADOS
SEGUN ENTIDADES FEDERATIVAS 1983.

ENTIDAD	CASOS	TASA
BAJA CALIFORNIA SUR	228	88.5
CAMPECHE	9	2.1
COAHUILA	3	.2
COLIMA	5	1.3
CHIAPAS	3473	150.6
DURANGO	1	0.1
GUERRERO	3597	149.8
HIGALDO	174	10.6
MICHOACAN	1267	38.0
MEXICO	69	.8
MORELOS	320	30.3
NAYARIT	11	1.4
NUEVO LEON	95	3.4
OAXACA	3966	146.1
PUEBLA	4468	124.4
QUERETARO	-.-	-.-
QUINTANA ROO	123	47.7
SAN LUIS POTOSI	44	2.4
SINALOA	1786	84.1
SONORA	1440	87.1
TABASCO	269	20.7
TAMAULIPAS	52	2.5
TLAXCALA	-.-	-.-
VERACRUZ	1467	25.1
YUCATAN	643	56.3
ZACATECAS	-.-	-.-
TOTAL	23510	32.2

TABLA N° 8

CASOS DE DENGUE POR MES
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
1983

MESES	1983
ENERO	508
FEBRERO	302
MARZO	319
ABRIL	199
MAYO	293
JUNIO	612
JULIO	797
AGOSTO	1733
SEPTIEMBRE	3587
OCTUBRE	3277
NOVIEMBRE	3891
DICIEMBRE	3510
IGNORADO	4882
TOTAL	23510

T A B L A N.º 9.

NOTIFICACION DE CASOS DE DENGUE
DURANTE 1984, POR ESTADO Y TRIMESTRE

E.U.M.

ENTIDAD FEDERATIVA	1º TRIMESTRE		2º TRIMESTRE		3º TRIMESTRE		4º TRIMESTRE		T O T A L	
	No.de casos	Tasa	No.de casos	Tasa	No.de casos	Tasa	No.de casos	Tasa	No.de casos	Tasa
AGUASCALIENTES	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
BAJA CALIF N.	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.0	1	0.06
BAJA CALIF S.	8	3.4	4	1.5	201	85.5	1271	540.6	1472	626.07
CAMPECHE	4	0.9	12	2.8	82	28.1	77	17.0	175	38.54
COAHUILA	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
COLIMA	15	3.9	418	110.5	247	58.2	55	13.0	735	173.27
CHIAPAS	99	4.3	111	4.8	256	11.0	35	1.5	501	21.53
CHIHUAHUA	0	0.0	0	0.0	1	0.04	0	0.0	1	0.03
DISTRITO FEDERAL	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
DURANGO	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
GUANAJUATO	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
GUERRERO	71	2.9	83	3.4	1891	76.7	1054	42.7	3099	125.67
HIDALGO	0	0.0	1	0.06	4	0.2	0	0.0	5	0.31
JALISCO	0	0.0	39	0.8	2517	47.6	166	1.1	2734	51.66
MEXICO	0	0.0	17	0.2	6	0.06	0	0.0	23	0.26
MICHOACAN	103	3.08	58	1.7	328	10.1	238	7.3	727	22.31
MORELOS	0	0.0	0	0.0	219	20.7	135	11.5	354	30.16
NAYARIT	24	2.2	82	10.2	2217	261.7	1757	207.3	4080	481.42
NUEVO LEON	10	0.0	0	0.0	0	0.0	71	2.3	71	2.30
OAXACA	91	3.3	96	3.5	243	9.7	463	18.5	893	35.72
PUEBLA	35	0.9	12	0.3	72	1.9	136	3.7	255	6.89
QUERETARO	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
QUINTANA ROO	25	11.0	44	17.0	240	105.2	261	114.4	570	249.91
SN LUIS POTOSI	0	0.0	0	0.0	4	0.2	0	0.0	4	0.22
SINALOA	133	6.2	31	1.4	104	4.6	155	6.8	423	18.58
SONORA	0	0.0	0	0.0	3348	125.8	2047	113.6	5395	299.32
TABASCO	10	0.7	1	0.07	7	0.5	1	0.1	19	1.40
TAMAULIPAS	0	0.0	10	0.4	4	0.2	0	0.0	14	0.60
TLAXCALA	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
VERACRUZ	107	1.7	75	1.2	130	2.1	78	1.2	390	6.24
YUCATAN	135	11.8	53	4.6	2467	217.3	2735	240.9	5380	474.75
ZACATECAS	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.00
T O T A L	860	1.1	1147	1.5	14588	18.8	10736	13.8	27331	35.22

TABLA N° 10

LOCALIDADES QUE SE REPORTARON INFESTADAS CON
AEDES AEGYPTI EN EL PAIS DURANTE 1984
 E.U.M.

ENTIDAD FEDERATIVA	No. LOCALIDADES INFESTADAS
BAJA CALIFORNIA SUR	11
CAMPECHE	2
COLIMA	3
CHIAPAS	35
CHIHUAHUA	1
GUERRERO	15
HIDALGO	1
JALISCO	2
MEXICO	2
MORELOS	7
NAYARIT	4
NUEVO LEON	1
OAXACA	4
PUEBLA	2
QUINTANA ROO	15
SAN LUIS POTOSI	88
SINALOA	18
SONORA	5
TABASCO	5
TAMAULIPAS	4
VERACRUZ	24
YUCATAN	46
TOTAL	214

T A B L A N° 11.
 RESULTADOS DE LABORATORIO DE LOS CASOS DE DENGUE
 ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
 1 9 8 4

ENTIDAD	No. DE PACIENTES	MUESTRAS RECIBIDAS			RESULTADOS SEROLOGIA			SEROTIPOS AISLADOS				
		1a.	2a.	TOTAL	CASOS POSITIVOS	CASOS NEGATIVOS	CASOS DUDOSOS	1	2	3	4	
BAJA CALIFORNIA SUR	16	4	12			16						
CAMPECHE	5	5	4		2	3						
CHIAPAS	18	18	9		3	9	5					
COLIMA	52	52	14		11	3		5				
DISTRITO FEDERAL	13	13	5			8	1					
MEXICO	52	45	39		3	37	12					
GUERRERO	27	27	21		10	7		7				
HIDALGO	1	1	1				1					
JALISCO	70	67	43		26	27		16	4			
MORELOS	54	54	-		16	2		3				
NAYARIT	51	34	26		22	4	1	10				
NUEVO LEON	17	17	14		6	6	2	1				
OAXACA	17	17	9		7	8	1					
QUINTANA ROO	17	17	17		3	11	2					
SONORA	92	92						22				
VERACRUZ	26	23	16		5	13						
YUCATAN	4	4	3		3							16**
T O T A L	535	517	250		118	154	25	64	4			16**

* Hasta la semana No. 43.

** Aislados en el laboratorio del C.D.C. de San Juan Puerto Rico.

TABLA N° 12

ENTIDADES FEDERATIVAS QUE SE REPORTARON CON
DENGUE EN EL PAIS DURANTE 1985
E.U.M.

ENTIDAD	CASOS EN LA SEMANA	DENGUE CLASICO ACUM.
1. AGUASCALIENTES	0	0
2. BAJA CALIFORNIA	0	0
3. BAJA CALIFORNIA SUR	2	19
4. CAMPECHE	0	7
5. COAHUILA	0	0
6. COLIMA	3	148
7. CHIAPAS	0	9
8. CHIHUAHUA	0	0
9. DISTRITO FEDERAL	0	0
10. DURANGO	0	0
11. GUANAJUATO	0	0
12. GUERRERO	1	109
13. HIDALGO	0	0
14. JALISCO	0	348
15. MEXICO	0	2
16. MICHOACAN	4	175
17. MORELOS	1	1
18. NAYARIT	0	177
19. NUEVO LEON	0	0
20. OAXACA	3	63
21. PUEBLA	0	12
22. QUERETARO	0	0
23. QUINTANA ROO	0	26
24. SAN LUIS POTOSI	12	162
25. SINALOA	0	28
26. SONORA	0	0
27. TABASCO	0	0
28. TAMAULIPAS	0	4
29. TLAXCALA	0	0
30. VERACRUZ	0	32
31. YUCATAN	3	94
32. ZACATECAS	0	0
TOTAL	29	1416

2. IMPORTANCIA EN SALUD PUBLICA

La creciente incidencia del dengue, y especialmente en su forma grave en la mayoría de los países de las regiones tropicales de Asia Sudoriental y del Pacífico Occidental, es un creciente problema de salud pública. Esta enfermedad es una de las principales causas de hospitalización y defunción en niños por lo menos en 8 países tropicales de Asia.

La F.H.D. se ha vuelto endémica en muchas ciudades grandes y luego se ha propagado gradualmente a ciudades y pueblos más pequeños durante las epidemias; debido a que se presenta en las ciudades en forma repentina y caprichosa ataca a los niños, con mucha frecuencia a los sanos creando pánico entre la población.

La fiebre hemorrágica del dengue se manifiesta en países cuya situación económica es muy precaria; el Aedes aegypti esta presente casi en todas partes.

La mayoría de las infecciones por dengue en niños de corta edad son moderadas y es difícil distinguirlas de un resfriado común u otras fiebres estacionales; la fiebre del dengue clásica afecta con más frecuencia a los adultos.

En zonas donde los virus del dengue son endémicos por lo general los adultos residentes son inmunes, debido a que la gran mayoría de las infecciones por dengue son moderadas, ello

significa que en las zonas endémicas puede pasar desapercibido un nivel bastante elevado de transmisión de la enfermedad.

La enfermedad se ha reconocido principalmente; pero no en forma exclusiva en los niños; con frecuencia el sexo femenino es más afectado que el masculino; en la mayoría de los lugares parece haber una pauta estacional definida en los brotes de la enfermedad; se ha sugerido que esta variación estacional se debe a fluctuaciones en la densidad de la población del vector y que los brotes se relacionen con el incremento máximo de la población del Aedes aegypti. Sin embargo en fecha reciente se ha comprobado que, independientemente de la densidad de población del vector, puede observarse una variación estacional en el índice de picadura del mosquito Aedes aegypti y que quizá este sea un factor de importancia en relación con los brotes de la enfermedad.

Las consecuencias epidemiológicas de la hipótesis de dos infecciones consecutivas en la patogénesis de la fiebre hemorrágica del dengue es como sigue: la F.H.D. se observa sólo en las poblaciones donde dos o más tipos de virus del dengue son simultáneamente endémicos o consecutivamente epidémicos.

Si varía la endemicidad del virus del dengue se observarán diversas modalidades epidemiológicas a la enfermedad:

1) Un tipo de virus del dengue endémico: enfermedad benigna o casi imperceptible en los niños. Raros casos de fiebre

del dengue en los adultos; fiebre del dengue en adultos con breves períodos de residencia (extranjeros).

ii) Un nuevo virus del dengue, tipo endémico: brote de fiebre hemorrágica del dengue en niños y en algunos adultos (la evidencia de la enfermedad se determina según la distribución por edad de las infecciones primarias del dengue que se presentan dentro del intervalo correspondiente; casos de fiebre del dengue en algunos adultos y en extranjeros, enfermedad leve en los niños,

iii) Dos o más virus del dengue endémicos con bajos promedios anuales de infección del dengue: brotes continuos o fiebre hemorrágica del dengue en algunos adultos y niños.

Síndrome de fiebre del dengue en extranjeros no inmunes y algunos niños, enfermedad febril benigna en niños autóctonos.

IV) O más virus del dengue endémico, con elevados promedios: brotes clínicos de fiebre hemorrágica del dengue en niños, raramente en adultos. Síndrome del dengue en extranjeros no inmunes. Enfermedad febril leve en niños autóctonos.

Dar información exacta al público y en el momento oportuno es extremadamente importante, ya que un público informado seguramente, cooperará más y apoyará más los esfuerzos para el control del mosquito; incluso, se les puede estimular para - -

protegerse ellos mismos y reducir el área de crecimiento del mosquito en sus propiedades particulares.

El público debe ser informado en cuanto a la real amenaza que es la enfermedad y debe comprender el papel que toma el mosquito en su transmisión. Es importante para el público conocer el carácter y extensión de las operaciones de control del mosquito, el tiempo y sitio de las fumigaciones, y también entender como las operaciones de control del mosquito les pueden afectar a ellos mismos. Inmediatamente antes de la aplicación de los insecticidas se debe anunciar para que el público no se sorprenda con el olor del insecticida o con el ruido asociado con la aplicación del mismo.

La diseminación de la información debe ser la responsabilidad de un sólo individuo; se deben hacer esfuerzos para alcanzar la mayor parte de la población rápidamente y en la forma más eficiente. Anuncios en el radio, T.V., así como información a través de los periódicos, generalmente alcanzan la mayor parte de la población de una área.

Presentaciones bien preparadas a selectos grupos cívicos o en reuniones públicas pueden ser muy útiles en ciertas situaciones de emergencia durante brotes de cualquier enfermedad transmitida por mosquitos.

3. PREVALENCIA E INCIDENCIA EN MEXICO

La conducta del padecimiento guarda estrecha relación

con la densidad y distribución de su transmisor, el mosquito - Aedes aegypti.

Las endemias han sido más extensas y de mayor intensidad en el sur y sureste del país, (estados de Chiapas, Oaxaca y Yucatán), que en el norte de la república (estados de Coahuila, Monterrey y Tamaulipas).

El mayor número de casos han ocurrido según fecha de inicio del padecimiento, en los meses de julio a octubre, coincidiendo con los índices de infestación más altos que del vector, determinados a su vez, por la correspondencia con el período de lluvias, y por consiguiente, mayor número de recipientes que albergan la fase acuática del vector, los meses de menor incidencia fueron abril, diciembre y marzo, respectivamente que corresponden a los de mayor sequía o temperaturas bajas que limitan la reproducción del vector y consecuentemente la población adulta circulante.

En general el mayor número de casos reportados corresponden en forma directa, al grado de urbanización de las localidades afectadas en función de la receptividad, vulnerabilidad y condicionada por la cantidad de mosquitos transmisores presentes.

El cuadro es más benigno en los menores de edad, en donde además se agrega la dificultad para establecer un diagnóstico diferencial con enfermedades exantemáticas propias de estos grupos.

El sexo femenino ha sido ligeramente más afectado que el masculino, se observa mayor frecuencia de casos en el grupo comprendido entre 15 y 44 años donde está el 65% de los enfermos.

La mayor incidencia se registró durante el período de lluvias coincidiendo con mayor cantidad de depósitos peridomiliares que albergan la fase acuática del vector.

En 1984 aparecieron los primeros casos de F.H.D. en la Península de Yucatán causando algunas muertes.

4. GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD.

La F.H.D./S.C.D. se clasifica según la gravedad de la enfermedad en cuatro categorías.

- | | | |
|--------|-------------|---|
| | GRADO I.- | Fiebre acompañada de síntomas -- constitucionales inespecíficos en que la única manifestación hemorrágica es la prueba del torniquete positiva. |
| F.H.D. | GRADO II.- | La manifestación adicional a la del grado I es hemorrágica espontánea, hemorragias cutáneas y/u otras. |
| | GRADO III.- | La deficiencia circulatoria se manifiesta por pulso rápido y débil reducción de la presión arterial (20 mmHg o menos) o hipotensión, piel fría, húmeda y agitación. |
| S.C.D. | GRADO IV.- | CHOQUE profundo con presión sanguínea y pulso no detectable. |

Los grados I y II corresponden a F.H.D.; los grados -

III y IV a S.C.D., la presencia de trombocitopenia con hemaconcentración simultánea diferenciará los grados I y II del dengue normal o clásico.

CAPITULO III

ETIOLOGIA

1. AGENTE ETIOLOGICO.
2. CICLO BIOLOGICO.
3. TRANSMISOR.

1. AGENTE ETIOLOGICO.

El agente etiológico del dengue es el virus Viscerophylus dengue. En 1907 Ashburn y Craig descubrieron al agente causante del dengue en la sangre de los seres humanos y también demostraron la "filtrabilidad" del mismo; que es cultivable en la membrana coridalantoidea.

Durante la segunda guerra mundial, estudios resumidos por Sabin (63), presentaron por lo menos dos tipos serológicos del virus del dengue 1 y 2 mientras, Hammon y cols. (64) reportaron dos tipos serológicos adicionales 3 y 4 años después en las Filipinas.

En el presente se conocen cuatro tipos distintos del virus aunque se han reportado otros tipos y subtipos separados por técnicas serológicas. Se ha demostrado que los 4 tipos están presentes tanto en los casos sin complicaciones como en los casos con problemas hemorrágicos.

Los virus del dengue se clasifican como flavovirus (Grupo B. Arbovirus) y se demuestra considerable similitud en la reactividad serológica de otros flavovirus, como el de la

fiebre amarilla, el de la encefalitis japonesa B y el de la encefalitis de San Luis; la proporción de infecciones de este último tipo es mucho menor en personas que poseen anticuerpos antidengue (65, 66) y estudios experimentales parecen confirmar esta suposición (67); existen no obstante diferencias, que hacen dudar de su identidad, así por ejemplo los voluntarios que fueron inmunizados con la cepa 17-D del virus de la fiebre amarilla resultaron carentes de resistencia respecto de, incluso, a dosis reducidas del virus del dengue.

El virus del dengue es poco resistente en las condiciones del laboratorio, en los que no se conserva más allá de tres semanas, se destruye a la temperatura de 50° sucumbe fácilmente por desecación, es muy resistente conservado en suero, pudiendo mantenerse helado a la temperatura de 5° durante cinco años.

Algunas cepas del virus del dengue se adaptan bien a los ratones, en los que se pueden mantener por pases sucesivos mediante su inoculación intracerebral. En los monos Macacus rhesus, la inyección intracerebral del virus del dengue previamente adaptado al ratón, produce una enfermedad con la elevación de la temperatura y en ocasiones con parálisis flácidas de las extremidades, que se termina por la muerte de los animales. (68), en estos casos se observa un cuadro histopatológico que recuerda a la poliomeilitis experimental (68).

La naturaleza virológica de la enfermedad ha sido confirmada experimentalmente mediante la inoculación de voluntarios

con virus pasados a través del organismo de ratones y monos.

Pero al mismo tiempo se ha demostrado que los mosquitos Aedes aegypti (Ilustración No. 1.) alimentados con sangre de enfermos y de ratones que padecen la enfermedad, son capaces de transmitir la infección a personas sanas mediante la picadura (68).

No obstante a partir del séptimo pase por ratones, la cepa hawaiana del virus del dengue deja de provocar ya en el hombre una enfermedad grave y la fiebre típica produciendo un exantema y una firme inmunidad contra el virus original no debilitando. (Sabin).

El virus es similar por sus dimensiones a los del virus de la fiebre amarilla y de la encefalitis, quizá ligeramente menor; su volumen suele ser de 12 a 25 nm., en micrografías electrónicas se observan partículas en forma de pesas de gimnasta, pero no sabemos si realmente representan partículas de virus.

Los mosquitos Aedes pertenecen a la familia de los Culicidos, el Aedes aegypti es un mosquito diminuto, que tiene en su dorso un dibujo de lira, unas manchitas plateadas al lado del abdomen y una coloración argentina en los segmentos proscutales de las extremidades, es fundamentalmente un mosquito casero y de los corrales.

La aparición de una enfermedad caracterizada por - -

hemorragias graves o por choque (69), con mortalidad del 10 al 15 por 100, se sabe desde comienzos del siglo que guarda relación con epidemias de fiebre de dengue. La etiología viral - del dengue para esta forma de enfermedad fué reconocida primero en Filipinas en 1956 (70).

Más tarde se ha presentado en forma epidémica en Tailandia (71), Malasia (72), y Vietnam (73). De 1961 a 1965 ha habido más de 16,000 casos en niños en Tailandia con una cifra aproximada de 1,000 muertes; por su presencia ahí, se denomina también fiebre hemorrágica de Thai. Puede asociarse con - cualquiera de los serotipos del virus, y hay datos epidémicos - que sugieren que algunas cepas pueden ser más virulentas que - otras.

2. CICLO BIOLÓGICO.

El Aedes aegypti es un mosquito altamente doméstico - que en el hemisferio oeste está íntimamente asociado con el ser humano.

Dada la incapacidad que tienen para soportar el invierno en los lugares donde este es crudo, la distribución del mosquito está limitada por la latitud y por la altitud.

Por lo general, raras veces, se ven más allá de las - latitudes 45°N y 35°S; estos límites de latitud parecen estar directamente relacionados con la temperatura, ya que aunque se

hayan encontrado creciendo fuera de estos límites es probable que estas poblaciones se hayan introducido durante las estaciones calientes desde áreas más templadas durante los meses de verano no sobreviviendo. Por ejemplo: en el hemisferio boreal (norte América, Europa y Asia) el promedio isotérmico va de 1.8 a 10.0°C en enero de 23.9°C a 26.7°C en julio. Sin embargo el promedio isotérmico por estación es lo opuesto en el hemisferio austral (Sudamérica, África y Australia) con las marcas isotérmicas de enero promediante entre 21.8 a 26.7°C y con las de julio entre 10.0 a 15.6°C.

Algunos datos experimentales indican que ciertas temperaturas específicas limitan el crecimiento de las larvas del Aedes aegypti y que la temperatura al igual que la humedad son factores críticos que afectan a los huevecillos y a las etapas adultas de desarrollo. Las temperaturas que van de 8.0 hasta 41.4°C tienden a limitar la etapa larval, mientras que si se exponen por un período prolongado a temperaturas de 8.0°C como de 41.4°C el resultado es mortal.

Los recipientes artificiales tan abundantemente proporcionados por la moderna sociedad industrial son en gran medida el más importante lugar de cría y son esenciales para la producción y la conservación de las grandes poblaciones de Aedes aegypti, aunque estos se reproducen en los huecos de los árboles y posiblemente en otras cavidades naturales, la inmensa mayoría surge en los neumáticos, vasijas de agua de los animales

domésticos, latas, floreros, pomos, canales de los techos, y - en realidad casi en cualquier objeto hecho por el hombre que - pueda retener agua y que no esté rodeado por los costados de - tierra.

Algunos recipientes son más atractivos que otros, a - las hembras les atraen los recipientes de colores oscuros con bocas anchas, especialmente cuando se encuentran a la sombra. El agua oscura y la presencia de hojas en descomposición estimulan la postura de huevecillos, pero evitan los recipientes - muy contaminados y con olores.

Comunmente los huevecillos se quedan pegados a los lados del recipiente cerca o en el borde del agua, si las paredes del recipiente son muy lisas los huevecillos se deslizan por la superficie del agua; los huevecillos son blancos y de un largo menos de 1 mm., pero a las dos horas se oscurecen casi hasta ponerse negros; los embriones para pasar a la fase larval necesitan un período de 2 a 3 días con mucha humedad cerca del nivel del agua, de no ser así éstos durante el período de desarrollo se debilitarían, secarían y los embriones morirían.

Cuando las larvas están completamente formadas los huevecillos resisten la sequía y pueden sobrevivir hasta más de un año, sometidos a condiciones de sequía las larvas durmientes - dentro de los huevecillos permanecerán en forma de incubarse en cuanto los huevecillos se sumergen al subir el nivel del agua y la disminución de oxígeno proporciona el estímulo necesario -

para la incubación, no todos los huevecillos se incuban la primera vez que están inundados.

La larva que emerge de la ruptura del cascarón es la primera de las 4 fases larvales, cada una de éstas es mayor que la precedente, el paso de una fase larval a otra se logra por el proceso de formación durante en el cual los insectos sueltan su viejo exoesqueleto (el caparazón) en la muda, el organismo del insecto segrega una substancia líquida que permite la separación entre el exoesqueleto y la nueva cubierta del cuerpo ya formada debajo de la anterior. La cápsula de la cabeza y el tórax del exoesqueleto se quiebra y la larva emerge con una nueva cubierta que le cubre el cuerpo y le permite aumentar de tamaño.

La larva pasa la mayor parte del tiempo alimentándose, usando las cerdas en forma de abanico para atrapar los microorganismos y las partículas de materia que están fuera del agua, buscando entre los objetos sumergidos y entre las materias orgánicas que se acumulan en los lados y en el fondo del recipiente. Las larvas de Aedes aegypti se pueden reconocer por sus movimientos sinuosos al nadar porque evitan la luz y por tener relativamente redondeada la punta del tubo del aire que las pone en contacto con la atmósfera.

Normalmente el desarrollo larval toma de 5 a 7 días y termina cuando la larva en la cuarta etapa se desarrolla alcanzando la etapa de ninfa que no se aumenta. Cuando las condiciones

no son favorables el tiempo de esta etapa puede prolongarse; - también la falta de reservas para alimentarse puede dilatar también el tiempo de desarrollo produciéndose ninfas y adultos de tamaño más pequeño.

La aglomeración de larvas puede producir el mismo efecto. La transformación de la larva a la forma adulta se completa durante los 2 o 3 días de la etapa de ninfa.

El adulto que emerge de la cubierta de ninfa es un mosquito oscuro que tiene unos diseños característicos de color blanco plateado en forma de lira sobre el tórax y unas bandas blancas alrededor de las patas. Los machos al igual que las hembras tienen diseños parecidos, pero los machos son menos robustos que éstas y se pueden identificar con facilidad por las antenas, que recuerdan a un cepillo de limpiar botellas. La antena de la hembra es mucho más delgada y con menos aspecto de cepillo. Lo mismo las hembras que los machos liban néctar o líquidos dulces de cualquier fuente accesible pero sólo las hembras se alimentan de sangre. A pesar de que pueden sobrevivir con azúcar como única fuente de alimentación, las hembras necesitan de la sangre para poder desarrollar los huevecillos. Los adultos no se separan grandes distancias, y rara vez se alejan del lugar donde nacen a más de un promedio de unos pocos metros. Este es un hecho indicativo, en el caso de los machos, de que su presencia es un indicio certero de que los criaderos están en los alrededores. (Ilustración No. 2).

Entre los mosquitos el apareamiento ocurre a las pocas horas de emerger como adultos. La hembra una vez inseminada puede poner varias cantidades de huevos fértiles si se ha alimentado con sangre antes de cada puesta. A las hembras les atraen los humanos y se mantienen picando todo el día y algunas veces de noche, especialmente en las habitaciones iluminadas. La conducta de la hembra Aedes aegypti cuando está buscando sangre se ha descrito como "sutil y astuta" se acerca desde la sombra cuando el aire va en retirada, y con frecuencia pica alrededor de los tobillos. Por alguna razón el macho se porta como la hembra, aleteando y arrojándose sobre la persona y hasta la sigue de habitación en habitación. Esto puede resultar molesto, pero los machos rara vez se posan sobre la piel y nunca intentan picar. Después de una alimentación de sangre, a los 2 o 3 días, normalmente los huevecillos están listos para desarrollarse y la hembra está preparada para buscar un lugar donde poner, completándose así el ciclo de una generación de huevecillos a otra.

La distribución del Aedes aegypti en los ambientes tropicales tiende a seguir los patrones que establece la lluvia. Los trabajos de Moore y cols. en 1978 en Puerto Rico demuestran que si aumentan las lluvias, aumenta el número de habitats larvales, y de este modo se agranda la densidad de la población adulta. En las regiones templadas donde existen sitios larvales, los factores que limitan la población, de mosquitos son: la temperatura, la frecuencia de las lluvias y la duración y

severidad de las condiciones del invierno. Donde las temperaturas son moderadas en el invierno, los huevecillos sobreviven en una gran variedad de recipientes; sin embargo, durante los inviernos crudos, sólo en los recipientes bien protegidos se encuentran las condiciones adecuadas para la supervivencia, y éstos pueden proporcionar la base para la expansión de la población durante los meses de verano.

3. TRANSMISOR

Aedes aegypti, Aedes albopictus y miembros del grupo Aedes scutellaris son transmisores de la fiebre dengue. El Aedes aegypti es mundial en su distribución y el único transmisor conocido de la enfermedad en el nuevo mundo, las otras especies son transmisores importantes en Asia y en las Islas del Pacífico.

Recientemente se sugirió al Aedes cooki como un transmisor en una epidemia en Nive, al sureste de Samoa (74).

Pruebas experimentales con Aedes vexans, Aedes sollicitans, Aedes taeniorhynchus, Aedes cantator, Culex pipiens, Aedes quadrimaculatus, Anopheles punctipennis, indican que estas especies son incapaces de transmitir el dengue (75).

Como el virus de la fiebre del dengue está presente en la sangre del enfermo por muy poco tiempo, la transmisión del dengue epidémico sucede solamente en áreas donde los transmisores

del Aedes están presentes todo el año.

El dengue epidémico por otro lado puede ocurrir dentro del radio de alcance de las especies transmisoras.

Cuando abunda Aedes aegypti la epidemiología del virus de dengue es similar a la de los virus del aparato respiratorio:

i) Mientras mayor sea un aumento de la población humana, más altas son las tasas de infección.

ii) Mientras más altas sean las tasas de susceptibilidad entre los seres humanos más elevadas serán las tasas de infección.

El factor decisivo de la transmisión del dengue es el porcentaje de casos adyacentes con cualquier cantidad de Aedes aegypti adulto, podría definirse como 50% la zona que debe considerarse ecológicamente propicia a la transmisión del dengue, por lo tanto mientras mayor sea la densidad de la población humana y del vector, mayor será la posibilidad de transmisión del virus y el establecimiento de endemicidad. Por lo general la cría de Aedes aegypti se relaciona con el almacenamiento de agua para fines domésticos y la elevada densidad de la población humana es fácil identificar las zonas de transmisión potencial del dengue.

En 1907 Ashburn y Craig demostraron que el mosquito algunas veces transmitía la enfermedad mecánicamente es este mismo

año Bancroft en Australia transmitió la infección a través de Aedes aegypti e hicieron una serie de experimentos y por fin - en 1926 se comprobó en Filipinas que la enfermedad era producida por Aedes aegypti, durante este experimento la sangre de un paciente con dengue pudo infectar a un mosquito en el último día de su período de incubación, después de que ingirió la sangre de 8 a 11 días dependiendo de la temperatura debe haber un lapso antes de que el mosquito pueda transmitir la infección, - hasta ahora no hay ninguna evidencia de que el virus sea hereditario.

Los virus del dengue son transportados por las personas, sobre todo por los niños. El Aedes aegypti tiene un corto radio de vuelo y como medio de transportar virus, dentro de las ciudades es menos importante que el hombre. Quizá la fuente principal de propagación de los virus del dengue es la escuela. El Aedes aegypti pica de día y es posible que los escolares que han sido picados por mosquitos infectados lleven el virus a su hogar en los distintos lugares de la ciudad al finalizar el día. Otra institución que propaga los virus es el hospital. Los visitantes y pacientes de consulta externa pueden ser picados en los hospitales por dicho vector infectado, propagando de esta manera el virus en toda la ciudad.

Después de varios meses de haber cesado las lluvias se ha observado que cuando el tiempo está frío y seco raras veces - se registran casos de F.H.D., quizá esto se relaciona con un -

índice más bajo de picadura, menor longevidad del mosquito hem
bra, y quizá una posible reducción de la población del vector.

En la mayoría de los casos en que los virus transmisibles por Aedes aegypti se propaga en zonas templadas en clima invernal interrumpió totalmente la transmisión del virus, esto se debe a la autocuración de los seres humanos infectados mientras los mosquitos están inactivos, al regresar el vector durante la época de calor, no hay huéspedes virémicos para reiniciar la infección.

La primera vez que el mosquito ataca al hombre, después de su primer vuelo lo hace de día, más tarde también ataca de noche, es muy sensible a las oscilaciones térmicas y sucumbe durante el verano cuando las temperaturas descienden hasta 10° o menos.

El mosquito puede infectarse de las personas infectadas desde las 6 a las 12 horas antes de que estos comiencen ha estar enfermos y durante los tres primeros días, después de ini
ciada la enfermedad pero se exige un determinado lapso de tiempo (el llamado período de incubación externo) para que la enfer
medad adquiera actividad en el organismo del mosquito y éste -
pueda infectar a las personas con sus picaduras; este tiempo -
es de 8 a 14 días. En condiciones óptimas del medio ambiente el mosquito puede transmitir la enfermedad pasados de 8 a 14 -
días despues de que ha ingerido sangre infectada conservando -
esta capacidad durante toda su vida, es decir durante uno a tres meses.

DIAGRAMA DEL MOSQUITO ADULTO DE *Aedes Aegypti*

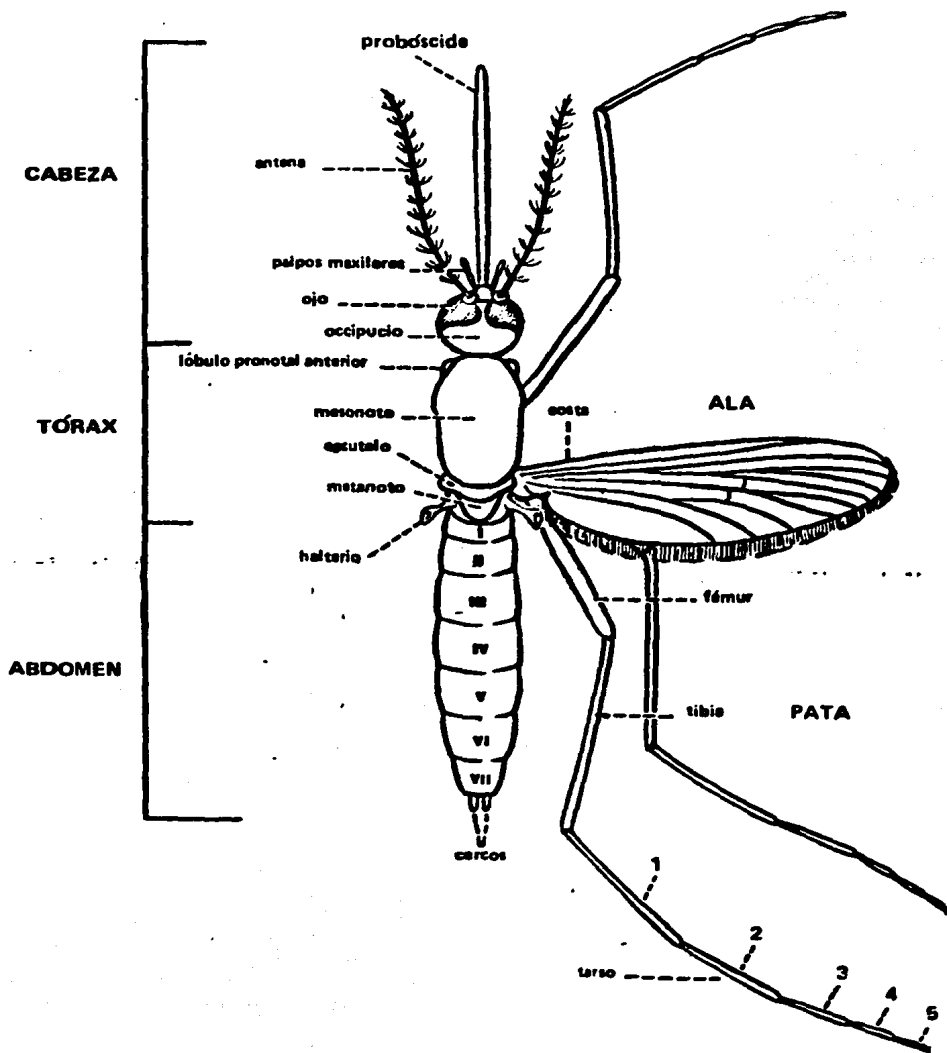
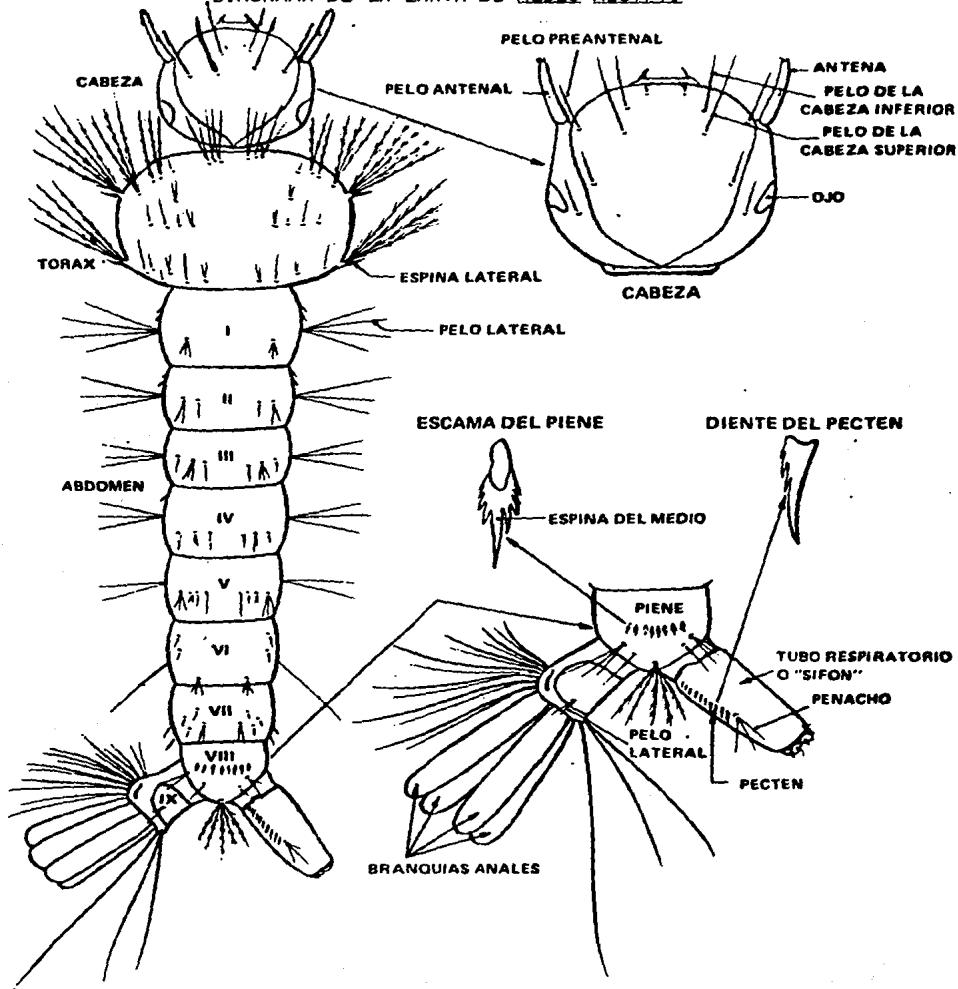


DIAGRAMA DE LA LARVA DE Aedes Aegypti



CAPITULO IV

DIAGNOSTICO

1. DIAGNOSTICO SEROLOGICO Y AISLAMIENTO DEL VIRUS. 2. PROCEDIMIENTO PARA EL CULTIVO Y MANEJO DE LINEAS CELULARES UTILES EN EL DIAGNOSTICO DEL DENGUE. 3. DIAGNOSTICO Y CUADRO CLINICO. 4. DIAGNOSTICO CLINICO DIFERENCIAL. 5. DIAGNOSTICO DEFINITIVO DE CASOS DE DENGUE. 6. INMUNIDAD.

1. DIAGNOSTICO SEROLOGICO Y AISLAMIENTO DEL VIRUS.

Se sigue la misma técnica para la obtención de sangre venenosa y separación de suero y coágulo, excepto con las siguientes variantes:

- El aislamiento e identificación del virus se realiza en el coágulo obtenido durante la etapa febril.
- Es indispensable su conservación y envío inmediatamente en hielo seco al laboratorio acompañados de un resumen clínico identificación del caso (nombre, edad, sexo, domicilio, etc.) y condiciones de obtención.

El aislamiento del virus también puede hacerse a partir de mosquitos infectados.

Los ejemplares deberán contener sangre en el abdomen y

podrán obtenerse bajo 2 procedimientos:

1' Capturándolos en habitaciones donde existan enfermos de dengue.

2' Exponiéndose intencionalmente enfermos durante la etapa aguda de la enfermedad, a la picadura de mosquitos previamente capturados.

Los ejemplares presuntamente infectados, se dejan evolucionar en jaulas durante 7 días, en la misma localidad de captura, después de los cuales se enviarán conservados en hielo seco al laboratorio.

La interpretación de los resultados se hará de acuerdo a los siguientes criterios:

RESPUESTA PRIMARIA (H.I.)

- Cambio significativo de 4 titulaciones en un sólo serotipo de un par de muestras de sangre procesadas DENGUE CONFIRMADO
- Sin cambio significativo, pero titulación mayor de 1:640 en un sólo serotipo en una de las muestras par DENGUE PROBABLE
- Sin cambio significativo, titulación mayor de 1:10 pero menor de 1:640 en un sólo serotipo de un par de muestras DENGUE DUDOSO
- Titulación de 1:10 o menor o no se detectan anticuerpos con virus en un par de muestras DENGUE NEGATIVO

RESPUESTA SECUNDARIA (H.I.)

- Cambio significativo en un par de muestras en uno o más serotipos con titulaciones de 1:640 o más contra dengue y 1 o más de los otros arbovirus del grupo B

DENGUE CONFIRMADO

- Anticuerpos contra dengue en un par de muestras y 2 o más de los otros arbovirus del grupo B, sin cambio significativo, pero titulación de 1:128 o mayor, en una de las muestras par

DENGUE CONFIRMADO

En general la interpretación de la respuesta antigénica es difícil en personas que han tenido experiencias con otros arbovirus del grupo B.

El aislamiento del virus del dengue ha sido difícil usando animales o sistemas de cultivo citológicos. La infección se puede establecer por inoculación del suero del caso agudo intracerebralmente en ratones.

Frecuentemente se requieren varios pasos para la adaptación antes de que se establezca un cuadro reproducible de la enfermedad y muerte en el ratón. Se ha demostrado además que algunos de los tipos del virus del dengue no causan enfermedad en ratones recién nacidos a pesar de varias reinoculaciones. Los

virus del dengue se pueden propagar en cultivos de células de diferentes tipos, pero en ninguno de los sistemas de cultivo de células usadas hasta la fecha se observa efecto citopático consistente para todos los tipos aislados del virus del dengue.

En la actualidad el mejor método disponible para la detección y aislamiento del virus del dengue en cultivo de células es por medio de placas de análisis en una línea continua de células del riñón del mono.

Los virus del dengue se pueden recuperar por medio de este método de los mosquitos y suero humano recogido en el curso de los estudios epidemiológicos. La identificación de los tipos de virus se puede conseguir usando los mismos sistemas de cultivos de células con un método de reducción y neutralización en placa. Debido al período requerido, de una a dos semanas para el aislamiento e identificación del virus del dengue por este método, no puede ser útil para el diagnóstico inmediato de casos individuales, pero, puede proveer información muy esencial en la identificación de focos endémicos o ataques epidémicos.

Una técnica nueva ha sido desarrollada para el aislamiento y amplificación del virus del dengue por medio de inoculación parenteral del mosquito Aedes con suero o con otros líquidos que se presume contienen virus. Este método es aparentemente más sensible para el aislamiento del virus que animales o sistemas de cultivo de células y puede proveer cantidades suficientes de virus para estudios más completos así como identi-

ficación por medio de anticuerpos fluorescentes, fijación de complemento o cultivos citológicos. (78, 79).

Las muestras de sangre deben obtenerse cuando hay sospecha de FHD., al ser admitidos al hospital o mientras son atendidos en la clínica o tan pronto como sea posible; y al ser dados de alta y de ser posible de 14 a 21 días después de iniciarse la enfermedad.

Los especímenes deben de ir acompañados de un resumen de clínica del caso que incluya nombre, dirección, edad, sexo, fecha de iniciación de la enfermedad, fecha de hospitalización y breves hallazgos clínicos.

Para la recolección de especímenes hay dos métodos:

A. RECOLECCION, ALMACENAMIENTO Y ENVIO DE SUERO/PLASMA.

a) Para el aislamiento se necesitan 2-5 ml de sangre obtenida en condiciones asépticas, el suero o plasma debe ser separado y transferido a tubos de rosca.

b) Se almacena el plasma-suero en el refrigerador antes de enviarlo al laboratorio.

c) Se identifica el espécimen en el frasco rotulando con cinta, el rótulo debe tener: nombre del paciente, número de identificación y fecha de recolección.

d) Se sella con cinta adhesiva, cera u otro material -

sellante alrededor del tapón del envase para hacerlo hermético.

e) Se envía al Laboratorio de Virología en hielo seco.

B. RECOLECCION DE DISCOS DE PAPEL FILTRO CON SANGRE.

a) El papel filtro especial puede ser saturado con sangre y cortarse antes del almacenamiento para usarse posteriormente en estudios serológicos.

El disco de papel filtro se engrapa a la ficha en que se anota la información, se describe la recolección y elución de la sangre para estudios serológicos.

b) Recolección de sangre.- Con lápiz las iniciales del paciente en el disco, coloque sangre de la punta del dedo en el disco saturando ambos lados de éste, el disco se deja secar y se puede almacenar a temperatura ambiente aunque es mejor en el refrigerador, por el período prolongado, de ser posible se obtienen de 2 a 3 discos de cada paciente.

PREPARATIVOS PARA LA PRUEBA DE ANTICUERPOS.

1' Eluir el disco durante la noche en 1 ml de solución salina de caolina-borato 12.5%, ph de 9 en un tubo de 12 x 75.

2' En la mañana poner el tubo a temperatura ambiente por 20 minutos agitando periódicamente.

3' Centrifugar 30 minutos a 2000 rpm.

4' Sin quitar la caolina añadir .05 ml de células de ganso al 50% al tubo, agite e incube a 37°C por 30 minutos.

5' Agregue 1 ml de solución salina de borato ph 9

6' Centrifugue a 2000 rpm por 10 minutos.

7' Decante el sobrenadante.

La prueba de la H.I. es la más útil para confirmar en el laboratorio un diagnóstico clínico.

Se recomienda la técnica Clarke y Casals (1958) para realizar la prueba de H.I. y se adapta el equipo de microtitulación, los sueros deben extraerse con caolina o acetona para eliminar inhibidores no específicos y luego ser absorbidos con glóbulos rojos de ganso para eliminar aglutininas no específicas.

Los sueros pareados de todos los casos diagnosticados como dengue o FHD deben ser analizados en la misma prueba usando al principio un solo antígeno. Si los sueros pareados no tienen anticuerpos ambos especímenes pueden ser analizados de nuevo contra antígenos de los cuatro tipos de dengue.

RESPUESTA SECUNDARIA DEL ANTICUERPO.

El anticuerpo H.I. al antígeno del dengue es menor 1:20 en suero obtenido antes del quinto día con igual respuesta al suero del convaleciente o superior 1:2560.

Si los antígenos múltiples se usan en las pruebas no se observa reacción monotípica con ningún antígeno en el espécimen del convaleciente.

INFECCION RECIENTE PRESUNTIVA.

El anticuerpo es 1:1280 o mayor en el espécimen del enfermo con la infección aguda sin cuadruplicación mayor del anticuerpo en el espécimen del convaleciente.

La interpretación de los anticuerpos del dengue puede ser:

PRIMER ESPECIMEN	SEGUNDO ESPECIMEN	INTERPRETACION	
antes: 4 día menos 1:20	Después de 1-4 semanas $\cong 4 \times$ menos 1:2560	respuesta primaria	a menudo monotípica
5 día $\leq 1:20$ $\cong 1:20$	$\cong 1:2560$ $\cong 4 \times$	respuesta secundaria	no monotípica.
7 día 1:1280	$\leq 4 \times$	Información secundaria reciente presuntiva	no monotípica.

Esto se basa en estudios realizados en el laboratorio de Investigaciones Médicas de SEATO.

Es difícil interpretar la respuesta de los anticuerpos

a los antígenos del dengue en las personas que han tenido experiencia previa con cualquier arbovirus del grupo B.

La prueba de fijación de complemento puede usarse también en el diagnóstico serológico cuando existan instalaciones para realizarlo.

2. PROCEDIMIENTO PARA EL CULTIVO Y MANEJO DE LINEAS CELULARES UTILES EN EL DIAGNOSTICO DEL DENGUE.

A. PARA LA LINEA CELULAR TRA-284.

a) Preparación de soluciones:

Medio E de crecimiento

MEM de Eagle con sales Earles 10 X	100 ml
Suero fetal de ternera inactivado	100 ml
Solución aminoácidos esenciales 10 X	10 ml
L-glutamina (200 mu)	10 ml
Bicarbonato de Na 7.5%	10 ml
agua destilada dionizada	770 ml
ajustar el pH a 7.0	

Medio E de mantenimiento

los mismos componentes pero unicamente 24 ml de suero fetal de ternera ajustando la cantidad de agua.

Medio LT

Medio Leibowitz (L-15)	500 ml
------------------------	--------

Caldo triptosa fosfato (TPB)	500 ml
------------------------------	--------

ajustar el pH a 7.2

montar controles de esterilidad durante 4 días y -
conservar éstos medio en refrigeración.

b) Pase de células TRA de botella a botella

1. Seleccione una botella de células TRA, de 25 cm² con crecimiento confluyente.
2. Descarte el medio de crecimiento de la botella por el lado opuesto a la monocapa celular.
3. Por agitación remueva la monocapa celular.
4. Agregue 5 ml de medio LT a la botella y resuspenda las células por pipeteo.
5. Ponga 2,5 ml de esta suspensión en cada una de dos botellas de iguales dimensiones.
6. Agregue 2.5 ml de medio E de crecimiento a cada una de estas mismas botellas
7. Observe diariamente con el microscopio para comprobar su crecimiento.

Pase de células Aedes albopictus de botella a botella.

1. Seleccione una botella de 25 cm² con células -
A. albopictus con crecimiento confluyente.

2. Elimine el medio de crecimiento por el lado opuesto a la monocapa celular.
 3. Resuspenda las células por agitación.
 4. Agregue 6 ml de medio E de crecimiento y resuspenda las células por pipeteo.
 5. Distribuya 2 ml de esta suspensión en cada una de tres botellas.
 6. Agregue 3 ml de medio E de crecimiento a - cada botella.
 7. Observe diariamente con el microscopio para comprobar el desarrollo.
- Estas dos líneas crecen a 28°C

c) Preparación de cultivos en tubos (TRA y A.a)

1. Seleccione botellas que tengan crecimiento confluyente.
2. Descarte el medio de crecimiento y suspenda las células por agitación.
3. Agregue 5 ml de medio adecuado a cada línea resuspenda las células por pipeteo.
4. Cuente las células en una cámara Newbawer y ajuste su concentración hasta tener 1 000 000 de células por ml.
5. Mantenga la suspensión de agitación constante y distribuya 3 ml de la misma por tubo a cultivar.

6. Cierre los tubos perfectamente, colóquelos en posición horizontal y cultívelos a 28°C.
7. Obsérvelos diariamente en el microscopio para detectar su crecimiento.

B. PARA FAVIVIRUS, DENGUE TIPOS 1, 2, 3 y 4.

a) Técnica de recolección de muestras.

- ESPECIMENES:**
- Muestra sérica colectada durante los primeros cinco días de iniciado el padecimiento.
 - Muestra sérica colectada cuatro semanas después de iniciado el padecimiento.
 - Especímenes de autopsia colectados lo más cerca posible al momento de la muerte: cerebro, brazo, hígado, pulmón.

PROCEDIMIENTO:

1. Se localiza una vena y previa asepsia se procede a coleccionar un volumen mínimo de 2 ml, óptimo de 8 ml con jeringa seca y estéril. La sangre se deposita en un tubo igualmente estéril y seco, previamente - identificado con el nombre del paciente.
2. Se mantiene el tubo en refrigeración durante 4 horas si fué tomada la muestra durante los primeros cinco días de iniciado el cuadro febril, o a temperatura - ambiente si lo es después de este tiempo. Se - -

- desprende el coágulo con ayuda de un aplicador y se procede a centrifugar durante 10 minutos a 1500 rpm.
3. Se separa el suero procurando que no lleve glóbulos rojos y se pasa a un tubo estéril, con tapa de rosca o de hule perfectamente identificado. Será conservado en congelación si es para aislamiento viral, o en refrigeración si es para estudio serológico. - Sino se cuenta con facilidades de congelación, podrá substituirse por refrigeración siempre y cuando las muestras lleguen al laboratorio en 1-2 días.
 4. Toda muestra deberá acompañarse de una historia clínica en la que además de los datos generales del pa-ciente se de la referencia de casos similares ocurridos en su localidad, presencia de vector en la vi-vienda, antecedentes de viajes fuera de su comuni--dad de antecedente de cuadro similar en el pasado, fechas de inicio y de toma.

Los casos complicados con hemorragia y con síndrome de Shock se asocian a una alta mortalidad; muy es-pecialmente los primeros cuando los clínicos y la -comunidad en general no están preparados para mane-jarlos. Por ello es de capital importancia colec-tar especímenes de órganos en frascos estériles, -por separado, en los que no se haya usado ningún -conservador y remitirlos de inmediato al laboratorio para intentar el aislamiento del virus.

En la misma forma se colectará muestra de sangre, - la que se centrifugará para separar suero y remitirlo al laboratorio; la demostración de IgA será de de valor diagnóstico.

Hay que recordar que la muerte ocurre en estadios - tempranos sin que se haya iniciado ninguna patolo-
gía especial, por lo que muestras para histopatolo-
gía no son de ayuda por lo que no se deberán colec-
tar partes de órganos en formalina.

b) Técnicas de cultivo.

i) Preparación de la muestra

PROCEDIMIENTO:

(suero de fase aguda)

1. Seleccione muestras séricas de pacientes febriles, - con menos de cinco días de evolución.
2. De cada uno de ellos se montará un control de esterilidad de la muestra en BHI, el que se llevará des- -
pués de 5 días de incubación a 37°C.
3. Las muestras que resulten con contaminación serán -
centrifugadas a 1500 rpm durante 15 minutos a 4°C y
pasadas por membrana de filtro milipore de 0.22
4. Seleccione tubos de células TRA que muestren buen -
crecimiento celular; inocule uno por muestra, con -

0.05 ml de la misma.

5. Incluya en cada ensayo un tubo "control positivo" - que ha sido inoculado con 0.05 ml de una suspensión de virus prototipo de dengue tipo 1, y un tubo "control negativo" que no ha sido inoculado y servirá - como control de células.
6. Cierre perfectamente bien los tubos con sus tapas, incube a 28°C durante 10 días; observe diariamente al microscopio; los cultivos que muestren contaminación serán descartados y se repite su procedimiento; lo mismo se hará cuando haya desprendimiento - de las células. Por lo general no se observe efecto citopático de ninguna naturaleza; cuando éste - ocurre, por lo general es con formación de sincicios.

c) Técnicas de identificación.

- 1) Inmunofluorescencia directa para identificación de flavivirus.

PROCEDIMIENTO:

1. Los tubos inoculados en el procedimiento anterior - son agitados vigorosamente y centrifugados a 2000 - rpm, a 4°C durante 10 minutos.
2. Incube los tubos en baño de hielo; descarte 1.5 ml de líquido de cultivo sobrenadante y en el remanente, resuspenda las células por pipeteo.

3. Se marcan láminas con teflón de 12 fosas para que -
contengan 4 ensayos, de tres fosas cada uno; se -
denominarán posiciones: a, b, c, y d. En la posi-
ción a, se montarán, una gota en cada fosa, células
del tubo "control positivo". En la posición b, se
montarán células del tubo "control negativo". En -
las posiciones c y d se montarán células de tubos -
inoculados con muestras de diagnóstico.
4. Se dejarán secar las gotas de células depositadas -
en la lámina; este proceso se puede acelerar va-
liéndose de una corriente de aire y consume aproxi-
madamente 30 minutos.
5. Se fijará la lámina en acetona fría a 4°C durante -
10 minutos valiéndose de frascos de tinción.
6. Se dejarán secar al aire y temperatura ambiente.
7. A cada fosa se agregará una gota de conjugado de -
fluoresceína-antiflavivirus, por lo general diluido
1:100 se incubará la lámina en cámara húmeda duran-
te 30 minutos a 37°C.
8. Enjuague la lámina con PBS pH 7.5 y sumérgjala en el
mismo reactivo durante 10 minutos.
9. Se elimina el exceso de PBS y se monta la lámina -
con cubreobjeto que abarque todas las fosas utili-
zando 2-3 gotas de glicerol de montaje.
10. Se lee la preparación en microscopio de fluorescen-
cia.

11. Las muestras que resulten positivas (fluorescencia intracitoplásmica) proseguirán la indentificación con la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Las que resulten negativas, serán descartadas y reportadas como "Negativas".
 - ii) Inmunofluorescencia indirecta para identificación de serotipo.

PROCEDIMIENTO:

1. Los tubos de cultivos que se procesaron por el método directo, fueron conservados en refrigeración en tanto se lefan los resultados. Una vez identificados los "positivos" se procesarán en la siguiente forma:

Sobre el mismo tipo de láminas recubiertas con terrón, de 12 fosas, se pasará una gota de la suspensión de células a cada fosa.
2. Las gotas se secan al aire como se describió en el procedimiento anterior.
3. Se fijarán en acetona a 4°C durante 10 minutos.
4. Se dejarán secar al aire y a temperatura ambiente.
5. Deberá incluirse una lámina procesada con "cultivo positivo" como control de referencia.
6. Procurando que los reactivos no se mezclen, se trabajará con anticuerpos monoclonales que han sido diluidos según indique su etiqueta; las diluciones -

se harán en PBS ph 7.5

7. Se dispone la lámina en sentido horizontal y, en sentido vertical quedarán grupos de dos fosas y en sentido horizontal, quedarán 6 posiciones de reacción. En grupos de dos fosas en sentido vertical, se depositará una gota en cada una de ellas de cada uno de los siguientes 6 reactivos:
 - 1' Monoclonal de flavivirus polivalente.
 - 2' PBS pH 7.5
 - 3' Anticuerpo monoclonal para dengue tipo 1
 - 4' " " " " " 2
 - 5' " " " " " 3
 - 6' " " " " " 4.
8. Se incuba la placa en cámara húmeda a 37°C durante 30 minutos.
9. Se lava la lámina con PBS ph 7,5
10. Se deja secar al aire a temperatura ambiente.
11. A todas las fosas de la lámina se agrega una gota de conjugado de identificación anti-IgG humana.
12. Se incuba la lámina en cámara húmeda a 37°C durante 30 minutos.
13. Se lava la lámina en PBS pH 7.5 durante 10 minutos, sumergida en un frasco de tinción.
14. Se elimina el exceso de PBS y se monta la lámina con un cubreobjetos que abarque todas las fosas utilizando 2-3 gotas de glicerol de montaje.

15. Se leen las láminas en microscopio de fluorescencia; habrá fluorescencia intracitoplásmica en la primera columna que contiene flavivirus-reactivo de y en las fosas que contengan algún serotipo, siendo ese el que lo identifica.

d) Técnicas serológicas.

f) Prueba de inhibición de la hemaglutinación (H.I.)

PROCEDIMIENTO:

1. Sangrado de ganso
2. Preparación de la suspensión de eritrocitos de ganso
3. Estandarización de eritrocitos de ganso
4. Tratamiento de los sueros con kaolín
5. Titulación del antígeno.
6. Titulación de anticuerpos en el suero.

1. Sangrado de ganso.

Se utilizan gansos blancos machos, adultos jóvenes que serán sangrados cuando mucho una vez cada semana para evitar que en la reacción haya formas jóvenes. Se fundamenta la prueba en la capacidad que tienen los flavivirus para aglutinar glóbulos rojos de ganso.

a' Se prepara la cara interna del ala quitando las plumas y haciendo la asepsia con alcohol y iodo; se -

localiza la vena humeral o alguna de sus ramificaciones.

- b' Se carga la jeringa de 10 ml, con 2 ml de solución anticoagulante ACD y se procede a hacer el sangrado de 8 ml de sangre por jeringa; la aguja utilizada estará de acuerdo al grosor de la vena.
- c' Inmediatamente de llenada la jeringa se quita la aguja y se vacía la sangre en un frasco que contenga solución de Alsever. Se conserva en refrigeración.

2. Preparación de la suspensión de eritrocitos.

- a' Para lavar los eritrocitos, se tomará un volumen de sangre y se adicionarán tres volúmenes de solución de DGV; se agita el frasco de centrifuga en el que se ha hecho la mezcla y se sedimentarán los eritrocitos por centrifugación a 1500 rpm durante 15 minutos. Se descarta el sobrenadante.
- b' Este procedimiento se repite tres veces. Después del último lavado, se resuspenden las células en tres volúmenes de DGV y se conservarán en refrigeración durante 18 horas antes de proceder a su estandarización.

3. Estandarización de eritrocitos de ganso.

- a' Debido a que el fenómeno de hemaglutinación dependerá

del número de células presentes, el proceso de estandarización es muy importante.

Se recomienda el método de estandarización por determinación de la densidad óptica (D.O.) la que es directamente proporcional al número de células presentes en una suspensión. Se calcula una suspensión que es 24 veces más concentrada que la que se utiliza en la prueba y así se conserva en refrigeración listas para ser utilizadas.

- b' Se agita el abasto de células lavadas y se pasa a un frascos de centrifuga graduado; se centrifuga a 1500 rpm durante 15 minutos; se descarta el sobrenadante y del paquete se hace una suspensión al 8% en DGV.
- c' Se agita a hacer una mezcla homogénea y se mide en un tubo, un volúmen al que se adicionan 23 de una solución de fosfatos a pH 7.0
- d' Se mezcla a obtener una suspensión homogénea. El espectrofotómetro se maneja con una longitud de onda de 490 mu. Se ajusta a 100% de transmitancia y 0 de observancia con una cubeta que contiene la solución de fosfatos como blanco.
- e' En otra cubeta se pasa la suspensión (1:24) de glóbulos rojos y se hace la lectura. Con este dato, y el volúmen de la suspensión, se procede a calcular el volúmen final al que debe ajustarse la - -

suspensión en base a la siguiente fórmula:

$$\text{volumen final} = \frac{\text{volumen inicial} \times \text{DO observada}}{\text{DO deseada (0,75)}}$$

- f' Se agrega o quita diluyente. La suspensión se conservará en refrigeración sin que se altere el número de células o sin que haya hemólisis durante una semana.
4. Tratamiento de los sueros con kaolín.
- a' Los sueros humanos y de otras especies en los que pueden hacerse determinaciones de anticuerpos contra flavivirus contienen además de anticuerpos, sustancias aglutinantes y sustancias inhibidoras de la hemaglutinación que es necesario remover. Un método aceptado universalmente es el de tratar los sueros con una suspensión de kaolín, seguido de una absorción con glóbulos rojos de ganso lavados; este procedimiento se sigue como se describe a continuación:
- b' En un tubo de 13 x 100 se miden 0.2 ml de suero problema. Se agregan 0.8 ml de borato salina pH 9 y un ml de kaolín al 25%.
- c' Incube con agitación constante durante 30 minutos, centrifugue a 2500 rpm durante 30 minutos. Decante el sobrenadante a un tubo limpio.
- d' En este tubo agregue 0.025 ml de paquete de glóbulos

rojos (una suspensión de glóbulos lavados es centrifugada a 1500 rpm por 15 minutos; se descarta el sobrenadante y este paquete es el que se utiliza). Incube durante 20 minutos en baño de hielo, agitando el tubo a intervalos de 5 minutos.

- e' Centrifugue a 4°C, a 2500 rpm durante 10 minutos. Remueva el sobrenadante a otro tubo. Tápelo herméticamente; representa una dilución aproximada de 1:10 del suero problema. Consérvese en refrigeración por periodo corto.

5. Titulación del antigueno.

- a' La determinación de anticuerpos se hará contra uno o varios o todos los serotipos del virus dengue. Se incluirán antígenos contra otro flavivirus, como el de la encefalitis de San Luis, y se incluirá un alfavirus, como el de la encefalitis venezolana; se utilizan microtécnicas y el equipo de microtitulación. Se investigará el pH óptimo de hemaglutinación (HA) para cada uno de ellos.
- b' Para cada antígeno marque una microplaca identificado en sentido horizontal, las diluciones incluidas y en sentido vertical, los pH incluidos, dados por diferentes soluciones de fosfatos que sirven como diluyentes de la suspensión de glóbulos rojos.
- c' Mida 0.05 ml de albúmina de bovino (BABS) al .4% a -

todas las fosas exceptuando la primera columna de la placa.

- d' Mida 0.1 ml de una suspensión 1:10 de cada antígeno en su respectiva placa, en la primera columna de - tantas fosas como soluciones de pH incluidas.
 - e' Proceda a hacer diluciones dobles (de 1:10 a 1:5120) de cada antígeno, en cada pH, utilizando dilutores de 0.05 ml.
 - f' Agregue 0.05 ml de suspensión de eritrocitos preparada a pH 6.0, 6.2, 6.4, 6.6, 6.8 y 7.0 en sus respectivas hileras; incluya un control de glóbulos - que contendrá únicamente diluyente y suspensión de eritrocitos a cada pH.
 - g' Cubra las placas e incúbelas a temperatura ambiente durante 30-60 minutos.
 - h' Determine el título de cada antígeno en cada pH en base a la más alta dilución a la cual se observa hmaglutinación completa. Identifique el pH óptimo. El control de glóbulos debe mostrar botón completo.
6. Titulación de anticuerpos en el suero.
- a' Si se procesa un sólo suero se trabajará en una sólo microplaca; si se procesan varios sueros, se utilizará una microplaca por cada antígeno incluido. Marque la microplaca señalando en sentido horizontal, - las diluciones incluidas en la prueba y en sentido -

vertical los diferentes sueros estudiados, o los -
diferentes antígenos incluidos según sea el caso.
Incluya un control de suero en la última fosa de -
cada línea y un control de eritrocitos. También -
se incluirá una titulación simultánea de cada anti-
geno.

- b' Mida 0.025 ml de BABS a las hileras marcadas como diluciones del suero, omitiendo las fosas de la primera columna (la primera fosa de cada hilera). Si - utiliza varias placas, haga lo mismo en cada una de ellas.
- c' Mida la misma cantidad en las fosas de "control de suero" (la última de cada hilera).
- d' Mida 0.05 ml de BABS en las fosas marcadas como - "control de eritrocitos".
- e' Mida 0.05 ml de cada uno de los sueros tratados, a la primera fosa de cada hilera (que no tiene dilu--yente).
- f' Mida 0.025 ml de suero tratado en su correspondiente fosa marcada como "control de suero".
- g' Haga diluciones dobles de cada suero con los diluto--res calibrados a 0.025 ml, a lo largo de la hilera - respectiva.
- h' Previamente diluya cada antígeno a la concentración que contenga de 8-16 unidades HA por 0.025 ml.
- i' Agregue 0.025 ml de esta dilución del suero en la -

placa respectiva a cada antígeno, excepto la fosa -
marcada como control de suero.

- j) La titulación "simultánea" de cada antígeno se prepara midiendo 0.05 ml de la suspensión del antígeno en la primera fosa y en la segunda fosa. Mida 0.05 ml de BABS en las siguientes 4 fosas de una hilera.
- k) Agite las placas durante 3 segundos; tápelas e incube durante 18 hrs. a 4°C.
- l) Saque las placas y espere 15 minutos. Haga las diluciones de cada antígeno con dilutores de 0.05 ml a partir de la primera fosa; éstas contienen ahora: 8, 4, 2, 1 y 0.05 unidades HA por 0.05 ml.
- m) Agregue 0.05 ml de suspensión de eritrocitos diluidos en el fosfato óptimo para cada uno de los antígenos. Agite las placas durante 3 segundos.
- n) Incube las placas a temperatura ambiente por espacio de 30.60 segundos.
- o) Examine la titulación de cada antígeno y determine el número de unidades incluidas en la prueba.
- p) Examine el control del suero que deberá mostrar un botón de eritrocitos bien formado.
- q) Examine el control de eritrocitos que también deberá mostrar un botón bien formado.
- r) Determine el título de cada suero vs. cada antígeno. Este será la más alta dilución que inhibe completamente la HA del virus.

ii) Prueba de fijación del complemento (FC)

PROCEDIMIENTO:

1. Preparación del suero problema.
 2. Preparación de eritrocitos de carnero.
 3. Titulación del complemento.
 4. Titulación de hemolisina.
 5. Titulación de antígenos.
 6. Identificación de antígenos.
 7. Determinación de anticuerpos.
1. Preparación del suero problema.

a' Inactivar cada suero a 56°C durante 30 minutos

b' Diluir este suero 1:4 en diluyente de veronal

NaCl	85	gr.
Veronal	5.75	gr.
Veronal Na	3.75	gr.
MgCl ₂ .6H ₂ O	1.68	gr.
CaCl ₂	0.28	gr.
Agua destilada	2 000	ml.

Solución de trabajo: mezclar 4 volúmenes de agua -
destilada con volumen de la -
solución stock de veronal; el
PH es de 7.3, 7.4

2. Preparación de los eritrocitos de carnero.
- a' Sangrar al carnero utilizando solución de Alsever -

como anticuoagulante.

- b' Lavar los glóbulos tres veces en solución salina es t^{er}il, centrifugando cada vez a 1500 rpm durante 10 minutos. En el último lavado se pasa el paquete celular a un tubo de centrífuga, cónico, graduado y se prepara con el paquete, una suspensión al 2.5%.
- c' Esta suspensión cuando sea diluida 1:10, tendrá una D.O. de 0.450 en el espectrofotómetro Coleman a una longitud de onda de 490 mu. Cuando se emplee micro técnica, se ajustará la concentración de eritrocitos al 0.4%.

3. Titulación del complemento.

- a' Puede utilizarse complemento liofilizado comercial, o suero de cobayo recientemente sangrado. El complemento deberá titularse cada vez que se hace la prueba. Como la unidad de complemento es definida como la menor cantidad del mismo que da hemólisis completa, la estimación del grado de hemólisis debe ser exacta. Aun cuando se use microtécnica, la titulación preliminar del complemento deberá hacerse en tubos de ensaye, con volúmenes finales de por lo menos 0.6 ml de reactivos.
- b' Diluya el complemento 1:50; prepare una serie de tubos a los que agregará cantidades de diluyente en aumento y cantidades de complemento en menores

volúmenes como se indica.

- c' Si se trabaja con complemento liofilizado, éste se hidrata y diluye 1:50; para hacer las diluciones de la titulación, se prepara una serie de tubos a los que se agregan cantidades de diluyente en aumento, y cantidades decrecientes de la "solución de trabajo" del complemento, como se indica:

complemento:	2,0	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,7	0,6	0,4
1:50 en ml									
diluyente	1.0	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2	2,3	2,4	2,6
en ml									

Estas series constituyen la base de las diluciones del complemento y son usadas para la titulación preliminar como para la final.

Para la titulación preliminar, se comienza con la menor cantidad de complemento, a la derecha, y se miden 0.3 ml de cada mezcla en su respectivo tubo de ensaye. A todos se agrega 0.1 ml de diluyente.

En esta forma, se obtiene una serie en la que la cantidad de "solución de trabajo" de complemento (1:50) es, de izquierda a derecha, 0,2 ml, 0,16 ml, 0,14 ml, etc. hasta ser de 0,04 ml en un volumen líquido total en cada tubo de 0,4 ml.

- a" Se prepara la suspensión al 2.5% de eritrocitos y una dilución de hemolisina (que esta alrededor de

1:500 siempre) que contiene tres DMH por 0.1 ml.

- b" Estas dos soluciones, se mezclan en volúmenes iguales y se incuban a temperatura ambiente durante 15 minutos; se agregan 0.2 ml de la mezcla, a cada uno de los tubos de la titulación.
- c" Se agitan bien los tubos y se incuban en baño de agua a 37°C durante 30 minutos. Se incluye un tubo que contenga el sistema hemolítico exclusivamente como control de estabilidad de las células.
- d" Al final de la incubación, se leen los tubos y, la menor cantidad que cause hemólisis completa es la unidad de complemento. En la prueba se incluyen de 1.8 a 2.0 unidades; como ejemplo: si en la titulación, la unidad está en 0.1 ml, las 0.18-0.2 ml van a ser usadas; en este ejemplo, si se decide usar 1.8 unidades, o 0.18 ml de la solución de trabajo, la dilución de este stock se ajustará a que tenga la cantidad requerida de complemento en 0.2 ml.

Esta suspensión, cuando es diluida 1:10, tendrá una D.O. de 0.450 en el espectrofotómetro Coleman a una longitud de onda de 490 mμ. En el microtest, la concentración de eritrocitos es del 0.4%.

3. Titulación de hemolisina,

Existen preparaciones comerciales de hemolisina en 50% de glicerol, o puede prepararse en el laboratorio.

Será necesario retitularla siempre que se haga la prueba aún cuando su título es muy estable, durante años, si se conserva diluida a 4°C. La titulación va a definir la dosis hemolítica mínima (DHM) que - bajo las condiciones de la prueba, hemoliza completamente los glóbulos rojos en la presencia de 3-4 unidades de complemento. Se debe evitar el exceso de hemolisina para evitar que aparezca aglutinación de los glóbulos antes de que suceda la hemólisis.

Titulación:

- a' Se hace una dilución de 1:100 y a partir de ella, - diluciones dobles hasta 12 800 o más altas si fuera necesario.
- b' Se coloca una serie de tubos de ensaye de 13 x 100; se marcan las diluciones correspondientes en orden descendente y se transfiere 0.1 ml de cada una a su tubo correspondiente,
- c' Se agrega a todos los tubos, 0,1 ml de suspensión - de glóbulos y 0.4 ml de complemento conteniendo 3-4 unidades.
- d' Los tubos son incubados a 37°C durante 30 minutos.
- e' La más alta dilución que da hemólisis completa es la DHM y en la prueba serán utilizadas 3.

VOLUMENES EMPLEADOS

La prueba puede hacerse en tubos de 13 x 100, en -

volúmenes totales de 0.6 ml, para la titulación del complemento y de la hemolisina. Se emplean también placas desechables, de 96 fosas, con capacidad de 2.5 ml o más pequeñas.

PRUEBA

La prueba se basa en lecturas de 100% de hemólisis. Se hace una titulación preliminar del complemento para determinar la unidad o la menor cantidad que hemolisa completamente a los glóbulos; en la prueba se usan de 1.8 a 2 unidades.

Cuando se usen microplacas, se usará una gota de 0.025 ml en lugar de 0.1 ml.

5. Titulación de antígenos.

Las diluciones de suero o de antígenos requeridos, serán hechos en tubos de ensaye y transferidos en los volúmenes requeridos.

Básicamente existe esta aplicación de la prueba:

a' Determinación del título de un antígeno y de relaciones entre virus.

Se usará la llamada titulación en caja (box); en general el antígeno y el suero son diluidos en forma ascendente en diluciones dobles, comenzando 1:4.

6. Identificación de un antígeno.

El antígeno ya fué probado con su suero homólogo, y su título ya fué determinado. El problema es identificarlo contra suero tipificador de título desconocido. El patrón a seguir es probar el antígeno problema a dos o tres diluciones, representando respectivamente 2, 8, 32 unidades, contra suero tipificador en diluciones dobles, comenzando a 1:4 o 1:8, seguido de 6 a 8 diluciones, usando diferentes concentraciones de virus se logra definir uno incluso cuando existe bastante cruzamiento.

7. Determinación de anticuerpos.

En un suero contra antígenos de referencia. Esto se hace como ayuda diagnóstica en enfermedad concurrente, en investigar relaciones virales, o para probar la eficacia de una vacuna inmunizante. Las diluciones del suero van de 1:4 o 1:8, a mayor, en diluciones dobles, contra una cantidad constante de uno o más antígenos conteniendo de 4 a 16 unidades.

Los controles serán antígenos normales. La fuente del antígeno que no fué infectada. Sueros normales, o prevacunales, si tal es el caso.

El suero se incluye en volúmenes de 0,025 ml; el complemento en volúmenes de 0.05 ml seguido de un

volumen (0.025 ml) de antígeno. Las mezclas son - incubadas a 4°C toda la noche cubriendo las placas para evitar la evaporación.

Se incluirá una titulación simultánea del complemento, que será bajo las condiciones de la prueba y - probando la cualidad posible anticomplementaria de los antígenos o de los sueros. Los antígenos y - los sueros son utilizados en estas titulaciones, - como la más alta concentración a la que fueron usados en la prueba. La titulación final es montada como sigue:

- a' Se parte de la dilución patrón de 0.04 a 0.2 ml y - se transfieren des gotas de cada uno de esos tubos, a su respectiva fosa en la placa, en forma de columnas. Cada columna consiste en tantas fosas como - suero o antígenos están incluidos más uno.
- b' A cada hilera se deposita una gota de suero o de antígeno, incluidos y a la última, una gota de diluyente como control. En esta forma, se obtienen titulaciones de complemento similares a la preliminar que se hizo, pero en presencia de un diferente reactivo además de uno que contenga exclusivamente complemento.
- c' Después de 18 horas de incubación a 4°C las placas y la de titulación son llevadas a temperatura ambiente por 15 minutos. En este momento se prepara una -

dilución de hemolisina que contenga 3 DHM en una gota y la suspensión al 2.5% de eritrocitos; se mezclan a volúmenes iguales durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se agregan dos gotas de la mezcla en cada fosa y las placas son colocadas a 37°C inmediatamente después de haber sido bien agitadas, para evitar la posible aglutinación antes de que ocurra la hemólisis; los resultados se leen a los 30-40 minutos.

- d' La hemólisis completa se lee como 0
La ausencia de hemólisis se lee como 4
Los valores intermedios de + 1, 2 y 3 son proporcionales.
- e' El título de un suero o de un antígeno está determinado por la más alta dilución que da más de 3 en fijación.

ANEXO: PREPARACION DE SOLUCIONES EMPLEADAS EN EL DIAGNOSTICO DEL DENGUE.

1. ACD (ácido cítrico-dextrosa)

dextrosa	22	gr.
citrato de sodio . 2H ₂ O	22.52	gr
ácido cítrico .H ₂ O	8.0	gr
agua destilada deionizada	1000	ml

2. Dextrosa - gelatina - veronal (DGV)

barbital	0.58	gr
barbital sódico	0.38	gr
gelatina	0.60	gr
cloruro de calcio anhidro	0.02	gr
sulfato de magnesio .7H ₂ O	0.12	gr
cloruro de sodio	8.50	gr
dextrosa	10.0	gr
agua destilada deionizada	1000	ml

3. 0.4% borato salina con bovalbúmina pH 9.0 (BABS)

1.5 M NaCl

cloruro de sodio	87.68	gr
agua destilada deionizada	1000	ml

0.5 M Acido bórico

ácido bórico	30.92	gr
agua destilada caliente	700	ml
agua destilada fría	300	ml

10N NaOH

Borato salina pH 9.0

1.5 M NaCl	80	ml
0.5 M H ₂ B ₃	100	ml
1.0 M NaOH	24	ml
agua destilada deionizada, llevar a 1000 ml		
chechar el pH y ajustarlo		

4% bobalbúmina (fracción V) pH 9.0

Bobalbúmina fracción V	4	gr
Borato salina pH 9.0	90	ml
ajuste el pH con NaOH a	9.0	
y lleve el volúmen final a	100	ml

0.4% bobalbúmina - borato salina (BABS) pH 9.0

Bobalbúmina al 4%, pH 9.0	100	ml
Borato salina pH 9.0	900	ml
filtre y conserve en refrigeración		

Soluciones de fosfato para preparar diferentes soluciones de pH.

1.5 M NaCl

NaCl	87.68	gr
agua destilada deionizada	1000	ml

2.0 M Fosfato dibásico de sodio	2.0 M Fosfato monobásico
---------------------------------	--------------------------

Na ₂ HP ₄ anhidro	283.96 gr	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	276.02 gr
agua destilada deionizada	1000 ml	agua destilada	1000 ml

0.15 M NaCl - 0.2 M Na₂HPO₄

1.5 M NaCl	100 ml	1.5 M NaCl	100 ml
2.0 M Na ₂ HPO ₄	100 ml	2.0 M NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	100 ml
agua destilada	800	agua destilada	800 ml

0.25M NaCl-0.2M NaH₂PO₄

0.2 M soluciones de fosfatos (soluciones de trabajo como diluyentes de eritrocitos)

para obtener el pH deseado

0.15 M NaCl-
0.2 M NaH₂PO₄0.15 M NaCl-
0.2 M NaH₂PO₄

5.75	3.0 ml	97 ml
6.0	12.5	87.5
6.2	22.0	78.0
6.4	32.0	68.0
6.6	45.0	55.0
6.8	55.0	45.0
7.0	64.0	36.0
7.2	72.0	28.0
7.4	79.0	21.0

Kaolín 25%

Kaolín ácido lavado	25 gr
borato salina Ph 9.0	100 ml

3. DIAGNOSTICO Y CUADRO CLINICO.

La frecuencia de presentación de los signos y síntomas en los casos de virus ha sido la siguiente:

- Fiebre alta, en el total de los casos hasta de 102°-105°F, coexiste frecuentemente congestión facial.
- Cefalea, artralgias, astenia, exantema en el 75% - 99%.
- Mialgias, adinamia, hiporexia, dolor retro-ocular y prurito en el 50-74%.
- Dolor lumbar, dorsal o epigástrico, linfadenitis y náuseas en el 25-50%.
- Vómitos y diarreas se notificaron en menos del 25%.
- En algunos enfermos se reportó epistaxis, hematemesis o melena. Se conoce un caso con hematuria, los cuales en su totalidad se han recuperado después de haber un cuadro más agudo y un poco más prolongado, sin agresión al estado general.

Al principio de la epidemia se tuvieron dificultades para el diagnóstico clínico del cuadro, confundiéndose principalmente con rubiola, sarampión, influenza, salmonelosis e infecciones respiratorias, pero algunas consideraciones específicas de orden epidemiológico han permitido su indentificación.

CUADRO CLINICO.

Fiebre hemorrágica del dengue sin choque.

A. Fase febril inicial.- En general la enfermedad empieza con aumento brusco de temperatura acompañado de rubor facial, y síntomas constitucionales inespecíficos como anorexia, cefalea, vómitos, dolores articulares o musculares, la temperatura es alta de 2 a 7 días y luego baja a nivel normal por lisis.

B. Fenómenos hemorrágicos.- La manifestación hemorrágica más común es la hemorragia cutánea, en la mayoría de los casos la prueba del torniquete es positiva, y aparecen con facilidad hematomas, al principio de la fase febril se observan petequias finas en las extremidades, cara, axilas y paladar blando.

La hemorragia gastrointestinal es poco frecuente y se manifiesta después de un período de choque incontrolado.

La epistaxis y gingivorragia son menos frecuentes.

C. Choque.- Pulso rápido, débil, reducción de la presión arterial e hipotensión, piel húmeda fría y agitación.

RESULTADO.

En casos leves y moderados al desaparecer la fiebre lo hacen también los signos y síntomas esto puede venir acompañado de sudoración y leves variaciones del ritmo del pulso y de la presión sanguínea, lo que se refleja en trastornos de las vías

circulatorias; después de un tratamiento con líquidos y electrolitos los pacientes se recuperan con rapidez.

FIEBRE HEMORRAGICA DEL DENGUE CON CHOQUE.

Signos y Síntomas.

El estado del paciente empeora repentinamente, aparecen signos de insuficiencia circulatoria, piel fría, manchada y congestionada, con frecuencia hay dolores abdominales al inicio, - posteriormente aparece cianosis peribucal y taquicardia.

El choque se caracteriza por pulso rápido y filiforme, piel fría húmeda y agitación.

En un lapso de 12-24 horas, si el choque no se corrige, el paciente puede caer en acidosis metabólica, hemorragia gastrointestinal grave que son de mal pronóstico.

FHD con o sin choque la convalecencia es breve, el retorno del apetito es un signo de buen pronóstico, en la convalecencia es común observar arritmia sinusal.

4. DIAGNOSTICO CLINICO DIFERENCIAL.

En primer término la gran similitud que ofrece esta enfermedad con la fiebre de papatau que también aparece con forma de brotes epidémicos en algunos países en que se observa FHD, - no obstante se diferencian entre sí estas dos infecciones, de -

manera general por la presencia de exantema de intensos dolores articulares en el dengue y su ausencia en el papatau.

De la gripe se diferencia el dengue por la falta de manifestaciones catarrales en las vías respiratorias superiores y porque se presenta en la estación que coincide con la aparición de los mosquitos en vuelo.

No es raro que el dengue simule un sarampión del que se diferencia por comienzo brusco, la ausencia de manifestaciones catarrales de las mucosas de las vías respiratorias y del exantema de Filatou-Koplik.

El exantema parecido al de roseola puede hacer que en los niños se confunda el dengue con la rubiola, aunque la ausencia de faringitis y el aumento de tamaño de los ganglios linfáticos de la nuca facilita la diferenciación entre ambas afecciones.

Cuando aparece el exantema de tipo escarlatinoso la presencia de éste, de prurito y descamación en pequeñas escamas en el dengue, pueden hacer pensar en una escarlatina, pero en el primero no se observa la aparición de una angina claramente delimitada como es típico de la escarlatina y además es diferente el cuadro hemático: en la escarlatina se observa una creciente leucocitosis con neutrofilia, mientras que en el dengue por el contrario hay una creciente leucopenia con neutropenia.

5. DIAGNOSTICO DEFINITIVO DE CASOS DE DENGUE.

El diagnóstico definitivo de los casos de dengue, requieren no solamente un diagnóstico clínico y serológico sino también el aislamiento e identificación del virus, una vez que la identidad de una epidemia está establecida, el diagnóstico clínico puede tener mayor seguridad pero habitualmente debe ser considerado sólo como presuntivo, en la ausencia de confirmación virológica o serológica.

Hacer diagnóstico diferencial clínicamente es difícil - en casos iniciales en áreas donde el dengue no es endémico o - las epidemias han sido escasas, la presentación de dolor en la espalda, cabeza, fatiga, falta de apetito, escalofríos, alza en la temperatura, sugiere una infección por dengue en personas - que han llegado recientemente a áreas donde el dengue es epidémico o endémico. En el último día de fiebre pueden aparecer - petequias en los pies, piernas, manos, axilas y paladar.

La fiebre hemorrágica del dengue es grave y se caracteriza por permeabilidad vascular anormal, pérdida de sangre, plasma, mecanismos anormales de coagulación, frecuentemente existen manifestaciones hemorrágicas, incluyendo la prueba del torniquete, hemorragia gingival, la trombocitopenia es característica y en casos más graves hematocrito bajo, hay descenso de albumina - en el suero, incremento en las transaminasas; en algunos pacientes habitualmente después de varios días con fiebre hemorrágica

del dengue aparece el síndrome de choque desarrollando falla - en la circulación, manifestada por taquicardia, tensión arterial baja, piel fría y nerviosismo, a menos que sea detectado y tratado el cuadro puede empeorar hasta convertirse en choque profundo con el pulso y la presión de la sangre imperceptible.

6. INMUNIDAD.

La recuperación de la infección en el hombre o en los - animales de experimentación que pueden infectarse con el virus, deja una inmunidad sólida y aparecen en el suero anticuerpos fi jadores de complemento y neutralizantes. El antígeno fijador del complemento puede prepararse de encéfalo de ratón y se de-- muestra la existencia de anticuerpos protectores y neutralizan- tes inyectando ratones inmunes en el primer caso, y con la prue ba de neutralizantes utilizando la cutirreacción antes señalada en el hombre o ratón, en el segundo.

La inmunidad sólida es para el serotipo homólogo y se - ha comprobado experimentalmente que persiste por lo menos 18 - meses.

Los convalecientes tienen un grado considerable de inmu- nidad inicial para el virus de serotipo heterólogo, pero desapa rece con bastante rapidez. Así a los dos meses después de la recuperación la inmunidad heteróloga probablemente suele bastar para evitar la infección adquirida naturalmente. Después dis minuye, de manera que la infección provocada entre el segundo y

noveno mes después de la recuperación empleando serotipo heterólogo origina un forma modificada de enfermedad, de menor duración sin exantema y generalmente menos grave.

La inmunización activa con cepas del virus adaptada al ratón ha dado resultados alentadores.

Simons y cols., en 1931 demostraron experimentalmente - en 100 soldados que la protección inmunitaria de la inoculación dura 13 meses; encontró además una inmunidad en los nativos y monos de áreas endémicas, sugirió que el reservorio de virus en una área endémica en la ausencia de susceptibilidad humana, como si lo hubiera tenido más tarde.

Langen en 1936 dijo que era cierto pero no excepcional encontrar a una persona que haya tenido más de un ataque en una epidemia, en 1938 Shortt produjo anticuerpos específicos de fiebre de dengue en la India.

En 1940 Manson-Bahr llegó a recordar a gente con 2 o 3 ataques, un gran número de trabajadores fallaron la reproducción de la enfermedad por inyecciones de virus dentro de individuos - que tenían de 1 a 10 meses después de que ellos se recuperaron - de una infección experimental, Manson-Bahr coincidió entonces en que la inmunidad del dengue no es más larga de 6 meses.

C A P I T U L O V

ASPECTOS INMUNOLOGICOS

1. ANATOMIA PATOLOGICA. 2. PRONOSTICO

1. ANATOMIA PATOLOGICA.

Mecking y cols., en 1936 observaron algunas petequias - hemorrágicas en el tracto intestinal, Heiser en 1937 en una autopsia notó un agrandamiento de los ganglios linfáticos internos.

En el escaso material estudiado se han realizado las siguientes observaciones: alteraciones degenerativas en el hígado, riñones y encéfalo que, se acompañan de fenómenos hemorrágicos en endocardio, pericardio, pleura, mucosas del tracto intestinal músculos y sistema nervioso. Así como alteraciones vasculares -- que suelen ser muy llamativas; en los focos de exantema hay edema del endotelio, edemas perivasculares e infiltraciones de células con núcleos gigantes.

2. PRONOSTICO.

En 1928 en una epidemia en Grecia, las muertes reportadas por Pontano y cols., fueron del 1%, mientras Cardamitis observó una tasa de mortalidad de 1 por cada 61,000.

En 1928 Griffiths y Hansons en la ciudad de Atenas, Grecia observaron que el 32.6% de muertes fueron certificadas como dengue.

Sharp y cols., en 1935 recordaron una muerte en 1000 casos reportados por Robertson en una epidemia en Brisbane y una muerte en 5000 personas reportadas por Schrumpf-Pierron en el -- Cairo.

La presentación benigna del dengue, difiere en casos de dengue clásico y hemorrágico, en el primero es como se ha observado, cuadro sufrido hasta 1981 en el Continente Americano, no origina mortalidad; y como consecuencia a cualquier defunción -- atribuida a dengue debió haber sido investigada con la finalidad de descartar a la enfermedad como causante del deceso.

El pronóstico de la fiebre del dengue clásico, es casi -- siempre favorable, una terminación mortal se observa únicamente en casos muy graves, formas tóxicas y en personas debilitadas -- (distróficos alimenticios y viejos, en los que se puede observar una mortalidad del.1% - .2%).

Después del descenso de la fiebre, el período de convalecencia puede prolongarse aún durante 1-2 semanas en el curso de las cuales los enfermos salen muy lentamente del estado de adinamia y de astenia nerviosa.

C A P I T U L O VI

1. TRATAMIENTO. 2. VACUNA DEL DENGUE.

1. TRATAMIENTO.

No existe tratamiento específico del dengue, por lo que tenemos que limitarnos al empleo de medicamentos sintomáticos. Contra las manifestaciones generales, ligadas a la excitación del Sistema Nervioso Central se recomienda el uso de preparados de bromuros y barbituratos; contra las artralgias y mialgias se recomienda la administración de piramidón y de aspirina, si se debilita la actividad cardíaca hay que administrar digitálicos o inyecciones intravenosas de glucosa.

La principal anormalidad patofisiológica en FHD/SCD es la elevada permeabilidad vascular que conduce a la pérdida de plasma, lo que aumenta el hematocrito a medida que el plasma escapa a través del endotelio y puede producir choque hipovolémico. Como consecuencia de la pérdida de plasma se produce anoxia tisular, acidosis metabólica lo que puede conducir a la muerte

La hemorragia gastrointestinal de gravedad suficiente para causar la muerte es poco común; sólo suele presentarse después de un período de choque incontrolado prolongado. Al igual que en otras virosis no se dispone de tratamiento antivírico específico pero son eficaces las medidas sintomáticas y de apoyo en casos de FHD/SCD.

A. FHD. sin choque.

a) Como consecuencia de fiebre alta, anorexia y vómitos se manifiesta sed y deshidratación, la ingestión de líquidos por vía oral debe ser tan abundante como pueda tolerarse, - es preferible administrar electrólitos y soluciones de dextrosa y/o jugos de frutas en vez de agua.

b) Durante la fase febril hay riesgo de convulsión, - por lo que se recomienda a los pacientes con hiperpirexia se les apliquen medicamentos antipiréticos, debe evitarse los salicilatos ya que causan hemorragias y acidosis. El acetaminofen es preferible en la siguiente dosis:

Menos de un año:	60 mg/dosis
de 1 a 3 años:	60-120 mg/dosis
de 3 a 6 años:	120 mg/dosis
de 6 a 12 años:	240 mg/dosis.

c) La determinación del hematocrito es esencial ya que indica el grado de pérdida de plasma y la necesidad de administrar líquidos por vía intravenosa.

d) El tratamiento con líquido administrado por vía parental debe efectuarse en una unidad de rehidratación. El líquido a usar es semejante en volumen y composición al utilizado en el tratamiento de la diarrea con deshidratación moderada, - ejemplo:

Peso al ser admitido	ml por Kg de peso corporal por día:			
primer día	menor 7 Kg	7-11 kg	12-18 kg	más 18 kg
segundo día	220	165	132	88
tercer día	165	132	88	88
cuarto día	132	88	88	88

Los líquidos consistirán en lo siguiente:

- 1/2 - 1/3 del líquido total como solución salina fisiológica.
- 1/2 - 1/3 del restante como 5% de glucosa en H₂O
- Solución para el tratamiento con líquidos de la FHD solución de lactato de Ringer.
- 1/2 SSF con 5% glucosa 1/2 LR con 5% glucosa, 5% de glucosa con 1/3 de SSF.

Esto está calculado para 24 horas. A un niño muy deshidratado la 1/2 del líquido calculado las primeras 8 horas y la otra mitad en las otras 16 horas.

Los pacientes deben ser hospitalizados y tratados sin demora cuando se observe cualquier síntoma o signo:

- agitación / letargo
- extremidades frías y cianosis peribucal
- pulso rápido y débil
- reducción de la presión del pulso.

B. FHD. con choque.

El choque ocasiona emergencia médica, inmediatamente - debe administrarse líquido y solución de lactato de Ringer intravenosa para ampliar el volumen de plasma a 20 ml/kg. En caso de choque continuo profundo se administra plasma, o una substancia expansivas del mismo; dextran a la dosis de 10 a 20 ml/kg/hr.

El ritmo de sustitución de los líquidos debe disminuirse según el ritmo de la pérdida del plasma, la determinación - del microhematocrito es un índice sencillo y seguro para estimar la pérdida.

Se deja de pasar líquidos intravenosos cuando el hematocrito está por debajo del 40% y el paciente recupera el apetito. La adecuada eliminación de orina indica suficiente volúmen circulante (no es necesario tratamientos con líquidos después de 48 horas, ya que el plasma extravasado se reabsorbe); el pulso - fuerte y la diuresis son buenos signos vitales en la fase de reabsorción y se elimina la probabilidad de hemorragia intestinal que se manifiesta principalmente en la etapa de choque.

Deben evitarse medicamentos hepatotóxicos, es recomendable la administración de hidrato de clorarl por vía oral o rectal; o paraldehido por vía intramuscular.

Dosis de hidrato de clorarl 12.5-50 mg/kg como dosis - hipnótica única no más de un gramo.

Paraldehido .1 ml/kg por vía intramuscular, no más de un gramo.

C. Tratamiento con oxígeno.

Debe administrarse a todos los pacientes con choque:

Transfusión de Sangre.

Se recomienda en los casos de hemorragia grave, hemorragia gastrointestinal, hematemesis y/o melena. Es preferible usar sangre fresca.

Evaluación del tratamiento antichoque.

Es necesario registrar con frecuencia los signos vitales como:

- a) Pulso, la presión sanguínea y la temperatura, las que deben tomarse cada 15 o 30 minutos o más a menudo hasta que el choque se elimine.
- b) El hematocrito y la hemoglobina cada 2 horas por las primeras seis horas y luego cada cuatro horas hasta lograr la estabilidad de ambos.
- c) Debe mantenerse una hoja de balance de líquidos indicando el tipo de líquidos, tasa y cantidad para evaluar la adecuada sustitución y corrección de líquidos y electrolitos.

La dieta blanda es la indicada particularmente si la

anorexia es muy marcada ya que es difícil persuadir al paciente para que tome comida.

2. VACUNA DEL DENGUE.

El posible control del dengue transmitido por Aedes aegypti no puede ser realizado en mucho tiempo en todo el mundo. Las vacunas ofrecen una alternativa en las áreas de control donde el vector es difícil de controlar; el potencial de las vacunas como un medio de control no pueden precisar la evaluación que se está dando. La vacuna no provee de protección a todos los serotipos del dengue por lo que es necesario una vacuna que produce inmunización simultánea para los cuatro tipos del virus del dengue.

Sólo dos sustratos de la célula son usados para la producción de la vacuna y otras de las limitaciones es que algunas clonas del virus del dengue aparentemente son inestables genéticamente.

En México la eliminación del Aedes aegypti de las poblaciones del sureste protegió a todas las zonas en peligro y al continuar la lucha antiaédica se logró la erradicación de la especie en 1962, comprobada internacionalmente. Lamentablemente el país fue re infectado primero por la introducción de huevos del mosquito en llantas de desecho importadas del sur de los Estados Unidos, donde nunca se ha hecho campaña y posterior

mente por la entrada al país de centroamericanos enfermos, lo -
que dió como resultado que los mosquitos se infecten.

A la vez, Aedes centroamericanos penetran por el sur de
México.

C A P I T U L O V I I

CONTROL DEL DENGUE

1. MEDIDAS PREVENTIVAS.
2. MEDIDAS DE EMERGENCIA.
3. VIGILANCIA DEL MOSQUITO
4. TECNICAS Y EQUIPO PARA LA VIGILANCIA DE AEDES AEGYPTI.
5. CONTROL.
6. PROTECCION PERSONAL CONTRA LOS MOSQUITOS.

1. MEDIDAS PREVENTIVAS.

Pruebas de laboratorio para determinar la sensibilidad a los insecticidas mostraron que Aedes aegypti es sensible al malathion, por lo que este es el insecticida que tiene más probabilidad de ser usado en programas de exterminio del transmisor adulto en situaciones de epidemia.

La preocupación de los países con problemas económicos y de salud a consecuencia de epidemias de dengue en áreas de alta densidad de los transmisores, dió como consecuencia la resolución de 1947 de la Organización de Salud de Pan América de erradicar el Aedes aegypti de este hemisferio (80).

En los siguientes 25 años, se han llevado a cabo programas en los 23 países del continente y los territorios, así como 22 de los 26 subdivisiones políticos insulares del lado Caribe-Atlántico.

Durante este período el transmisor fué erradicado en 19 países conteniendo 8,690,843 kilómetros cuadrados o 73.5% del -

área inicialmente infestada.

La erradicación del Aedes aegypti, se confirmó entre - los años 1958 al 1965 en 17 de los 23 países inicialmente infes- tados; sin embargo, en las áreas insulares la erradicación se ha conseguido solamente en 2 de los 26 países y territorios.

La prevención y limitación de las epidemias del dengue depende totalmente del control del mosquito. Saber cuando, - donde y como controlar este transmisor depende en medidas efi- cientes y adecuadas en la vigilancia de la enfermedad y el mos- quito transmisor, así como el conocer la historia natural de es- te transmisor en relación con la transmisión de la enfermedad.

Los procedimientos de control del mosquito transmisor - dependen totalmente en la pronta información de la presencia o importación de infestaciones del dengue.

Particularmente en áreas conocidas como no endémicas - del dengue, se deben hacer esfuerzos en cualquier caso clínico sospechoso para confirmar el diagnóstico; aunque la confirma- - ción del diagnóstico serológico o virológico sea de poco valor - para el paciente, es muy importante en la confirmación de la pre- sencia de focos endémicos o epidémicos del dengue.

El dengue es una enfermedad poco conocida en el área con- tinental de los Estados Unidos, no habiéndose observado desde - 1945, por lo que no es considerado un diagnóstico de rutina.

Es la responsabilidad de las autoridades de salud pública de áreas receptoras el notar la epidemia del dengue en áreas comerciales o de interés turísticas al público y alertar sus recursos diagnósticos ante la posibilidad de casos importados o introducidos.

2. MEDIDAS DE EMERGENCIA.

Una erupción reconocida o sospechada del dengue requiere medidas inmediatas para detener la transmisión. Es de urgencia hacer un análisis adecuado de la situación con el fin de expedir las decisiones necesarias para medidas de control de emergencia. Importantes factores deben ser considerados en el diseño de un plan de control de emergencia incluyendo los siguientes:

- A. Extensión y distribución de la enfermedad.
- B. Tamaño y distribución de la población del mosquito adulto.
- C. Extensión de la reproducción del mosquito.
- D. Cambios anticipados que pueden afectar la reproducción del mosquito debido a cambios estacionales.
- E. Factores climáticos que pueden afectar la reproducción del mosquito y su conducta.

Un plan de control de emergencia del transmisor basado en medidas que eliminarían o disminuirían la población de mosquitos adultos incluirá cuatro actividades esenciales:

- A. Vigilancia de casos humanos.
 - B. Vigilancia intensificada del mosquito.
 - C. Control del mosquito en toda la área afectada.
 - D. Información pública.
-
- A. Vigilancia de casos humanos.

Un sistema sencillo y práctico de vigilancia de los casos humanos facilita el reconocimiento de la enfermedad en la comunidad, y decide el establecimiento de medidas de control de emergencia, así como una evaluación de la efectividad de las medidas de control.

Cuando se sospecha con bases bien fundamentadas que está ocurriendo un brote de dengue, se debe hacer una búsqueda activa de los casos por los departamentos de salud responsables con comunicación diaria entre hospitales, clínicas y otras facilidades médicas de la comunidad.

La confirmación del dengue es muy importante y se debe hacer tan pronto como sea posible con la compilación de muestras de sueros de los primeros casos sospechosos.

Los resultados del diagnóstico serológico (HI, CF, o NT) son muy significativos cuando se obtienen sueros en los estadios agudo y de convalecencia, un incremento superior a cuatro veces la titulación original representa un resultado positivo significativo.

Las pruebas deben incluir a los 4 tipos conocidos del -

virus del dengue. Aunque el aislamiento del virus es un procedimiento que generalmente no se puede realizar fácilmente, sería muy deseable en la identificación definitiva del tipo de virus.

Aunque una titulación serológica elevada en una muestra única de sangre no garantiza un diagnóstico definitivo debido a la posibilidad de un contacto anterior con otros flavovirus, la asociación con un síndrome clínico muy sugestivo, puede constituir evidencia suficiente para justificar el comienzo de medidas de control.

B. Vigilancia intensificada del mosquito.

Idealmente, la información sobre la abundancia y distribución del transmisor, Aedes aegypti, debe ser disponible por medio de un programa continuo de vigilancia del transmisor en cualquier área que sea receptiva al dengue. Si éste es el caso, la necesidad para información adicional requeriría solamente un aumento en el número de sitios para coger muestra de larva o adultos, particularmente en relación con la localización geográfica de los casos humanos, así como un aumento en la frecuencia de la toma de muestras en sitios estratégicos.

Cuando se contempla la posibilidad de establecer medidas de control sobre un área extensa, es importante establecer una línea base acerca de la población de mosquitos que pueda servir para determinar la afectividad de las medidas de control que se

emplean subsiguientemente.

C. Control del mosquito en toda el área afectada.

La presencia de casos confirmados de dengue, o aún enfermedades con alta probabilidad de ser dengue, en una comunidad donde se sabe que existen poblaciones de Aedes aegypti, debe ser señal para iniciar un esfuerzo de controlar el mosquito en toda la área. Si estos casos pueden ser clasificados como habiendo sido adquiridos localmente, esfuerzos máximos de control hacia la inmediata reducción de las poblaciones del mosquito adulto son esenciales.

Bajo esas condiciones se debe asumir que hay mosquitos infectados presentes en el área y esfuerzos para su eliminación inmediata para prevenir adicionales casos humanos son de alta importancia. Bajo condiciones de laboratorios ideales el adulto Aedes aegypti puede sobrevivir hasta 4 meses o más, pero en la naturaleza un período de sobrevivencia de un mes se debe considerar como más probable.

Una vez que un mosquito hembra adulto Aedes aegypti se ha convertido en infeccioso para el dengue, seguramente permanece de esta forma para toda su vida, con la posibilidad de transmitir la infección cada vez que se alimenta en un huésped humano.

La aplicación de un volúmen extramadamente bajo (ULV) de insecticidas usando equipo aéreo o en la tierra, ha tenido éxito controlando los mosquitos adultos en situaciones de emergencia.

Aunque usados principalmente para el control de situaciones de emergencia de los transmisores de encefalitis viral, estas medidas se han probado contra Aedes aegypti en varios experimentos y son adaptables para usar en casos de emergencia.

Es difícil alcanzar a las poblaciones adultas de Aedes aegypti con dosis de insecticida dispersado como rociados ULV - debido a su hábito de permanecer adentro de la vivienda y en sitios bien protegidos.

Generalmente, la fumigación desde tierra (ULV, neblina, llovizna, y polvo) debe realizarse casi siempre durante la tarde, de noche o temprano por las mañanas. Durante estas horas hay generalmente una inversión de la temperatura del aire y la velocidad del viento es más lento, condiciones que hacen que las gotillas de insecticida se queden más cerca del suelo incrementando su efectividad.

Si el viento es más rápido de 6 mph o la temperatura de la tierra está elevada, el rociamiento seguramente será inútil, ya que estas condiciones dispersan y diluyen este tratamiento. La fumigación aérea ULV generalmente por las mismas razones deben aplicarse sólo temprano en la mañana.

Los programas de control del mosquito en áreas extensas se pueden incrementar con otros métodos en ciertas situaciones, por ejemplo, tratamiento con insecticida residual donde los mosquitos reposan en grandes cantidades.

Sería deseable conducir una campaña intensa de toda el área para reducir el número de lugares donde surgen, una campaña de limpieza, además de las medidas de emergencia para controlar al Aedes aegypti adulto, sin embargo, en pocas áreas hay recursos suficientes para conducir una campaña de esta naturaleza como cosa de emergencia.

Estas medidas, bien organizadas y bien administradas, podrían prevenir nuevas poblaciones del Aedes aegypti adulto y la extensión de la epidemia del dengue.

D. Información pública.

El dar información exacta al público y en el momento oportuno es extremadamente importante, ya que un público informado seguramente cooperará y apoyará más los esfuerzos para el control del mosquito, incluso, se les puede estimular para protegerse ellos mismos personalmente y reducir el área de crecimiento del mosquito en sus propiedades particulares. El público debe ser informado en cuanto a la real amenaza que es la enfermedad y debe comprender el papel que toma el mosquito en su transmisión, así como el peligro escaso o grande que constituye el insecticida.

Además le es importante conocer el carácter y extensión de las operaciones de control del mosquito, el tiempo y sitio de las fumigaciones y también entender como las operaciones de control del mosquito les puede afectar a ellos mismos. Por lo

que inmediatamente antes de la aplicación de los insecticidas - se debe anunciar para evitar sorprender a la comunidad con el olor del insecticida o con el ruido asociado con la aplicación del mismo.

3. VIGILANCIA DEL MOSQUITO.

Aedes aegypti es un mosquito urbano muy adaptable, cuya fase de pre-adulto (huevos, larva y pupa) se encuentra en una gran variedad de envases naturales y artificiales en o cerca de lugares habitados por el ser humano.

Su asociación cercana con el hombre y la utilización de casi cualquier tipo de envase desatendido y conteniendo agua, - como criadero, son factores que contribuyen significativamente en su papel de transmisor de la fiebre del dengue. El conocimiento de la presencia, de la abundancia relativa y de la distribución de la población del Aedes aegypti, es necesario para una estimación realística del potencial de transmisión del dengue en una área urbana dada.

Si la vigilancia se inicia pronto y continúa sistemáticamente durante la temporada de crianza del mosquito, se obtendrá un registro de los niveles de distribución y población en los cambios de estación.

Los métodos de probar los insecticidas en la población adulta del Aedes aegypti no están bien desarrollados y por lo -

tanto los resultados de muestras de adultos son menos reproducibles que los resultados de muestras de huevos, larva, pupa; sin embargo, las muestras de adulto pueden ser importantes.

Debido a los hábitos domésticos del mosquito, se puede hacer mucho para reducir o eliminar este transmisor a través de la eliminación de lugares de crianza localizados alrededor de los domicilios.

Las campañas de descacharrización son muy importantes, ya que eliminan criaderos reales y potenciales de Aedes aegypti intradomiciliarios.

En barriles para agua de lluvia, cisternas y otros depósitos de agua para uso doméstico se puede poner un rejilla. - Lagunas pequeñas de tipo ornamental pueden ser pobladas con - - peces larvívoros.

Donde la cría no se puede controlar eliminando sus fuentes larvicidas, químicas o adulticidas pueden ser útiles a la - reducción de la población de Aedes aegypti

Sin embargo, el uso de preparaciones químicas de tipo - larvicida y adulticida debe ser considerado como un método secundario, siendo el método más importante la eliminación de los lugares de cría.

4. TECNICAS Y EQUIPO PARA LA VIGILANCIA DEL A.AEGYPTI.

i) Trampas para los huevos del mosquito.

La ovitrampa consiste en un envase negro del tamaño de

una piña con una pala estrecha enganchada verticalmente en su interior. La pala está hecha de una tabla dura de color oscuro con el lado aspero dando al centro del frasco y su parte más baja, basada en una pulgada o más de agua limpia que se ha añadido al envase. Así la pala al absorber el agua se convierte en una superficie atractiva donde el mosquito deposita sus huevos. La trampa trabaja tomando ventaja de ciertas respuestas naturales del mosquito grávido que incluye atracción hacia objetos oscuros y al vapor del agua y la preferencia de una base aspera y húmeda para poner los huevos.

Si se siguen las líneas de conducta se ayudará a conseguir el potencial completo de la ovitrampa como un instrumento de conseguir muestras:

- a) La hembra normalmente vuela cerca del suelo, así que la trampa debe ser puesta en o cerca del nivel de la tierra.
- b) Las respuestas del mosquito son en parte visual, o sea que la trampa debe ser visible a la hembra que vuela sobre ella.
- c) La trampa no debe recibir agua en exceso de tales recursos como el rocío del jardín o el exceso de agua en el tejado.
- d) Lugares adecuados para colocar la trampa son los sitios de reposo del mosquito adulto como arbustos y pilas de basura.

- e) Las ovitrampas deben ser puestas en sombra total o parcial. Se debe evitar la luz directa del sol - de la tarde y áreas pavimentadas totalmente expuestas al sol.
- f) La parte trasera de la propiedad es generalmente - un mejor lugar para colocar las trampas que el frente por poseer más sitios para la cría del mosquito.
 - ii) Vigilancia de los adultos Aedes aegypti.

En circunstancias tales como un brote súbito de la fiebre del dengue donde es necesario evaluar rápidamente los efectos de las operaciones de emergencia adulticidas, las colectas de adultos deben hacerse antes y después del tratamiento. La recolección de hembras en cebo humano pueden ser posibles en sitios cercanos a los criaderos del Aedes aegypti, tales como depósitos de neumáticos viejos, cementerios y depósitos de chatarra.

Los mosquitos son capturados individualmente así como - vienen a alimentarse con aspiradores con succión por boca o a motor. Un período de colección de media hora es apropiado. - Se ha demostrado que la atracción humana para el Aedes aegypti, varía tanto, como 5 veces de persona a persona.

Otro método de colección es la búsqueda de adultos en - casas, garages, construcciones exteriores, cabañas y lugares si milares de descanso del mosquito adulto. Puesto que el Aedes

aegypti, es en general activo durante el día, las muestras colectadas durante el día serán comunmente aquellas que están en proceso de digestión de sangre recientemente ingerida, así como de desarrollo de sus huevos. Los mosquitos en reposo son más frecuentes en esquinas oscuras, debajo de mesas y escritorios y en lugares similares donde la intensidad de luz es mínima.

5. CONTROL.

i) De la larva del mosquito.

Las medidas para el control o eliminación de las poblaciones de Aedes aegypti están principalmente dirigidas hacia el estado larval, bien a través de la destrucción de esta larva en estos sitios de habitación con insecticidas u otros medios.

Esfuerzos organizados hacia la eliminación de latas, botellas, neumáticos, utensilios, objetos de tubería, o cualquier otro material descartable y que puede contener agua puede ayudar mucho en la reducción de las poblaciones de Aedes aegypti.

La reducción de las fuentes de origen a través de campañas de limpieza conducidas por la comunidad requiere una organización muy detallada y la cooperación completa de la población civil, así como de los comerciantes.

La limpieza de toda la comunidad tienen ciertos beneficios sanitarios, incluyendo la reducción de la población de ratas y moscas y la eliminación de peligros que pueden causar accidentes.

En forma similar, ciertas situaciones de tipo no residencial pueden ser responsables por la acumulación de grandes cantidades de materiales que contienen agua y pueden necesitar tratamiento especial; éstos incluirían cementerios, montones de basura por las carreteras, depósitos de neumáticos y autos usados, solares vacantes, edificios parcialmente destruidos o fuera de uso, etc. Estanques ornamentales, cisternas, barriles de agua de lluvia y otros depósitos de agua que se mantienen con intención, así como inadvertidos, acúmulos de agua en canalones de techo en malas condiciones, así como botes y otros envases que no se pueden destruir, requieren medidas adicionales para eliminar la cría del mosquito.

El uso de ciertos larvicidas químicos está indicado y es apropiado en situaciones donde la reducción de la fuente de reproducción no es posible o es incompleta. Los insecticidas que están registrados corrientemente, para usar como larvicidas del mosquito se encuentran en la Tabla No. 13.

La destrucción de las larvas para el control del Aedes aegypti se puede conseguir con pulverizadores de mano en la mayor parte de los sitios o con pulverizadores de motor para sitios de cría más grandes, usando una de las varias formulaciones líquidas de insecticidas que son apropiadas para el caso.

Otros métodos de control de la larva incluyen poblar los estanques ornamentales como peces larvívoros, como las - -

gambusia o guppies; cisternas. Los barriles de lluvia, y - otros envases usados para guardar agua se pueden tapar o poner les una tela metálica para evitar la cría del mosquito; tanques o botes usados para dar de beber a los animales deben ser vaciados o limpiados con corta frecuencia para prevenir la maduración de la larva Aedes aegypti y la salida de adultos.

ii) Control del mosquito adulto.

Fumigar toda una área con insecticida provee una manera importante para la reducción significativa o eliminación de la población del mosquito adulto en casos de emergencia. Tales - áreas han sido fumigadas usando polvos, neblina térmica o neblinas frías de bajo volumen ya sea con equipo terrestre o - aéreo. El control del mosquito adulto en cualquier clase de área es solamente temporal, puesto que los mosquitos de superficies no fumigadas pueden moverse rápidamente al área fumigada siguiendo las aplicaciones del rocío, y este tiene comunmente muy poco o ningún efecto en los estadios acuáticos, por lo que la aparición de los adultos continúa.

El tratamiento de los espacios fuera de casa con aplicaciones terrestres o áreas han sido usadas efectivamente contra un número de mosquitos transmisores, incluyendo el Aedes aegypti. Los insecticidas conocidos como útiles para tales aplicaciones se encuentran en las tablas Nos. 14 y 15.

6. PROTECCION PERSONAL CONTRA LOS MOSQUITOS.

Los Aedes aegypti pican principalmente durante el día - pero también atacan de noche. Entran fácilmente en domicilios y a menudo crían en floreros y en otros envases que contienen - agua existentes en el interior de un edificio. La gente se - puede proteger de los mosquitos eliminando sitios de cría, dentro y afuera de la habitación, usando mosquiteros en las ventanas, ropa protectora o repelentes. Por consiguiente en una - situación epidémica se debe insistir para que la gente evite - contacto con el mosquito tanto como sea posible. El mosquitero en ventanas impedirá la entrada a la mayoría de los mosquitos especialmente si se tratan con un insecticida residual. - Puertas de pantalla deben abrir hacia afuera y deben tener un mecanismo de cerradura automática. La aplicación de un insecticida residual sobre y alrededor de las puertas incrementa la protección.

El uso de redes para proteger a los niños en las cunas - puede ser indicado en situaciones de mucho peligro.

Comunmente se puede obtener alivio del ataque del mosquito con la aplicación de repelentes de insectos sobre la piel y la ropa. Cierta número de ellos dan protección adecuada contra los mosquitos, como la dietiltoluanida, los repelentes se - pueden obtener en botellas en forma líquida, en lata de aerosoles y en forma de barras.

T A B L A N° 13

INSECTICIDAS USADOS COMO LARVICIDAS

Insecticida	Cantidad Usada (AI/A)	Comentarios
Fosfatos Orgánicos		
chlorpyrifos (Dursban R)	0.0125-0.05 lb/4046.4 m ²	Mezclar 0.8-1.6 oz chlorpyrifos 2E con agua, queroseno o aceite combustible para hacer un galón. Aplique a 1 galón; 4046.4 m ² . En vegetación abundante aplique de 1.6-3.2 onzas chlorpyrifos 2E por galón. Aplique a 1 galón/4046.4 m ² .
fenthion (Baytex ^R)	0.05 lb/4046.4 m ²	Aplique 1.5 oz en agua suficiente, queroseno o aceite diesel para cubrirlo uniformemente, o en 1.9 galón de agua. Deje al menos 3 semanas entre aplicaciones.
malathion	0.4-0.5 lb/4046.4 m ²	Mezclar 2.5 onzas de malathion 57E con agua para hacer 1 galón. Aplique hasta 5 galones/4046.4 m ² dependiendo de la vegetación flotante y otra vegetación.
temephos (Abate ^R)	0.05-0.1 lb/4046.4 m ²	Aplique 5-10 lb del 1% de la arena Abate y celatom granulado/4046.4 m ² . Aplique 2.5-5 lb del 2% de la arena Abate y celatom granulado/4046.4 m ² . Aplique 1-2 lb del 5% de la arena Abate y celatom granulado/4046.4 m ² .
temephos (Abate ^R)	0.1-0.5 lb/4046.4 m ²	En agua con alto contenido orgánico o contaminación, aplique hasta 25 lb de 2% de arena Abate y celatom granular o hasta 10 lb - 5% de la arena Abate y celatom granular.
temephos (Abate ^R)	0.16-0.048 lb/4046.4 m ²	Mezclar 0.5-1.5 oz de Abate 4E por galón de agua. Aplique a 1 galón/4046.4 m ² .

Insecticida	Cantidad Usada (AI/A)	Comentarios
methoxychlor	1 lb/4046.4 m ²	Aplique hasta 2 lb de 50% methoxychlor WP a sitios de cría secos, como un tratamiento pre-cría.
Aceites para mosquito control propietarios (como Flit MLO, ARCO larvicida, y GB-1313.	1-5 galón/4046.4 m ²	La dosis depende de la cantidad de flotante y otra vegetación. En receptáculos cubre la superficie de la agua.
Reguladores de crecimiento		
Altosid	0.025-0.05 lb/4046.4 m ²	Mezclar 3-4 oz de 10% Altosid en 1/2 a 5 galones de agua y aplique a 4046.4 m ² . - Aplique a áreas mojadas con segundo, tercero y cuarto larva instar. Altosid no mata pupa o adultos.

E o EC = Concentrado emulsionable
 WP o WW = Polvo que se puede mojar con agua
 AI/A = Insecticida activo por 4046.4 m²

(Estas recomendaciones sirven de guía solamente. Quien los usa debe asegurar que los insecticidas se aplican de acuerdo con la etiqueta y regulaciones locales, estatales y federales).

T A B L A N° 14.

INSECTICIDAS USADAS ACTUALMENTE PARA EL CONTROL DEL MOSQUITO
CON VOLUMEN MUY BAJO Y CON EQUIPO TERRESTRE

Insecticida	Fórmula	Comentarios
chlorpyrifos (Dursban ^R)	Neblina para mosquitos de Dursban Dow Concentrado ^R	A velocidad de vehículo de 10 millas por hora, 2/3 a 1-1/3 fl oz/minuto. Máximo de 0.3-0.62 gal/hora.
fention (Baytex ^R)	Líquido Baytex Concentrado ^R	A velocidad de vehículo de 10 millas por hora, 1 fl oz/minuto. Máximo de 0.5 gal/hora.
malathion	Cythion ULV Concentrado ^R	A velocidad de vehículo de 5 millas por hora, 1-2 fl oz/minuto. Máximo de 1 gal/hora. A velocidad de vehículo de 10 millas por hora, 2-4 fl oz/minuto. Máximo de 2 gal/hora.
naled* (Dibrom ^R)	10% Dibrom 14 ^R en HAN ^R	A velocidad de vehículo de 10 millas por hora 6-12 fl oz/minuto. Máximo de 6 Gal/hora. Con esta cantidad personas pueden sufrir irritación seria de los ojos y de las vías respiratorias.
	1% Dibrom 14 ^R en aceite combustible con 1% de aditivo de Ortho	A velocidad de vehículo de 10 millas por hora 40 fl oz/minuto. Máximo de 20 gal/hora.
piretron	5% piretrinas - 25% butoxido de piperonyl	A velocidad de vehículo de 5 millas por hora, 2-2.25 fl oz/minuto. Máximo de 1 gal/hora. A velocidad de vehículo de 10 millas por hora 4-4.5 fl oz/minuto. Máximo de 2 gal/hora.
resmethrin	10% SEP-1382 ^R	A velocidad de vehículo de 5 millas por hora 3/4 fl oz/minuto. Máximo de 0.42 gal/hora.

Nota: fl oz = onzas de líquido; HAN nafta muy aromática.

* Con naled, la presión del tanque no debe ser más de 1.5 libras por pulgada cuadrada debido al exceso de atomización y mal control del mosquito.

(Estas recomendaciones sirven de guía solamente. Quien los usa debe asegurar que los insecticidas se aplican de acuerdo con la etiqueta y regulaciones locales, estatales y federales).

T A B L A N° 15

LOS INSECTICIDAS ACTUALMENTE USADOS PARA EL CONTROL DEL MOSQUITO
ADULTO CON NEBLINAS, LLOVIZNAS Y POLVOS

Insecticida	Dosis, lb/4046.4 m ² (AI/A)	Comentarios
carbaryl (Sevin ^R)	0.2-1.0	La dosis se basa en una franja de anchura de 300 pies. Aplicado durante el atardecer hasta el amanecer. El rocío es usualmente dispersado de 7 a 25 galones por milla a una velocidad de vehículo de 5 millas por hora. Neblinas se aplican a 40 galones por hora dispersadas del vehículo a una velocidad de 5 millas por hora ocasionalmente 80 galones por hora y 10 millas por hora. Fórmulas ya preparadas para neblinas termales contienen 0.5 a 8 oz/gal de insecticida real en aceite. Para neblinas o lloviznas no termales se puede usar emulsiones de agua. Polvos pueden ser aplicados con equipo terrestre.
chlorpyrifos (Dursban ^R)	0.024-0.05	
fenthion (Baytex ^R)	0.01-0.1	
malathion	0.075-0.2	
naled (Dibrom ^R)	0.02-0.1	
propoxur (Baygon ^R)	0.05-0.07	
piretrinas (sinergia)	0.002-0.0025	
resmethrin (SBP-1382 ^R)	0.007	

* AI/A - Insecticida activo por 4046.4 m²

(Estas recomendaciones sirven de guía solamente. Quien los usa debe asegurar que los insecticidas se aplican de acuerdo con la etiqueta y regulaciones locales, estatales y federales).

RESUMEN

El dengue (D), y la fiebre hemorrágica (FHD) del dengue con o sin síndrome de choque (DSC) representa uno de los principales problemas de salud pública alrededor del mundo en áreas tropicales y subtropicales. Es causado por un virus del cual se reconocen cuatro serotipos y es transmitido a través de un vector de la especie Aedes aegypti principalmente. Los brotes epidémicos y/o su endemicidad se correlacionan con la distribución del vector, el cual se cría en el interior de las viviendas, necesita mucha ingesta de sangre y está muy asociado con el hombre. Más del 50% de los casos que ocurren son subclínicos y sus manifestaciones clínicas van, desde un cuadro febril indiferenciado, a un febril con exantema y artralgias, o con exantema hemorrágico, petequias, sangrado generalizado - especialmente asociado al aparato digestivo, y el acompañado con síndrome de choque que por lo general se asocia con alta mortalidad.

Después de la picadura por un mosquito infectado, se sigue un período de incubación de 4 días como promedio; posteriormente un comienzo clínico brusco, con viremia que dura - aproximadamente 5 días. En este período se recomienda tomar una muestra de sangre que servirá para intentar el aislamiento del virus y como muestra sérica de fase aguda; tres semanas - después se hará una segunda toma de sangre que será la muestra

en fase de convalecencia y servirá para detectar cualquier alza en el título de anticuerpos hacia el virus.

Se han reportado epidemias de dengue en el hemisferio - Americano desde 1827, pero así como está ocurriendo en las epidemias del continente Asiático, se están observando cambios en su conducta clínica y epidemiológica; no solamente está surgiendo en nuestro continente la forma hemorrágica del dengue, descrita por primera vez en Asia en 1954, sino que cada vez se disemina más y persiste largo tiempo en una área.

Después de un intenso esfuerzo, en seis años logró erradicar el Aedes aegypti en 1964; pero al no continuarse en forma intensiva el control del vector, reinvasió en su frontera norte. A partir de 1978, como resultado de un brote que ocurría en el Caribe, se introdujo en el país el serotipo uno y desde entonces la infección se ha diseminado principalmente en áreas bajas costeras de México, densamente pobladas. En Asia se ha asociado la introducción de varios serotipos con la aparición del síndrome hemorrágico; en nuestro país se han detectado por aislamiento tres serotipos por lo que un diagnóstico preciso y rápido es fundamental para impartir medidas de control del vector y limitar los brotes. El diagnóstico se basa fundamentalmente en el aislamiento del virus, lo que permitirá hacer su tipificación, y en la demostración de una alza en el título de anticuerpos que puede ser de por lo menos cuatro veces en relación con el título encontrado en fase aguda. Son

virus que muestran cruzamiento antigénico con respuestas cruzadas que en la mayoría de veces hace imposible definir por serología cual es el serotipo circulante, por lo que el aislamiento del virus es fundamental en el diagnóstico. Se hace necesario al final, hacer una identificación con técnica de mapeo de oligonucleótidos del serotipo circulante, para determinar, dentro del tipo, su verdadera identidad, muy especialmente dentro del serotipo dos que muestra por lo menos 4 variedades al presente. Esto permite aclarar la diseminación geográfica de los serotipos, data de gran trascendencia cuando hay evidencias que apoyan la existencia de cepas hemorragíparas que en un momento dado podrían extenderse en nuestro país.

Es fundamental estandarizar la metodología seguida por los laboratorios de diagnóstico y remitir sistemáticamente aislamientos y sueros a centros nacionales e internacionales de referencia.

El sistema ideal en cultivo celular con aplicaciones universales para la recuperación de todos los flavovirus no ha sido encontrado. Su manejo en el laboratorio cursado por varias etapas. Originalmente el primer sistema práctico y económico que se encontró fue el ratón lactante de 1 día de edad, el cual se le inoculaba por vía intracerebral y mediante pases ciegos lograba adaptar en él después de más de 10 intervalos. En esta forma surgió el tipo 1 del dengue. Posteriormente fueron utilizadas líneas celulares que eran sensibles a otros

virus: vero, LLCMKE, pero su crecimiento ha sido muy difícil - y únicamente por plaqueo fue difundido su uso en los laboratorios.

Gubles y Rosen iniciaron el uso de mosquitos Aedes aegypti en un principio fueron inoculados por vía intracerebral con el correspondiente trabajo que requería un adiestramiento, equipo, y se acompañaba de una alta mortalidad por daño al insecto; cuando se instalaba la técnica. Demostró que con una inoculación de 4 días era suficiente para poder demostrar la inmunofluorescencia, presencia de virus en las cazas de mosquitos inoculados, lo que ha acelerado grandemente el diagnóstico por aislamiento. Sin embargo, esta técnica no se ha difundido mucho por que requiere en primer lugar, con contar con tales mosquitos, -- personal altamente adiestrado con incubadores espaciosos para poder contener grandes volúmenes de mosquitos inoculados entre otras cosas. Afortunadamente, surgió la tecnología de cultivos de células a partir de mosquitos Aedes las cuales resultan muy bien de la réplica de estos virus. Otros se dieron a la tarea de establecer líneas celulares de insectos extendiéndose el uso de líneas derivadas de Aedes: albopictus y pseudoescutellaris.

G. Kuno inició el cultivo de células provenientes de un mosquito no hematófago que estaba siendo grandemente utilizado en los laboratorios, el Toxorhynchites amboinensis; su cultivo como tal requería de llevar simultáneamente varias colonias de mosquitos por ser sus larvas carnívoras; el diseño de una meto

dología que permitía el cultivo de líneas celulares de esta especie revolucionó grandemente el trabajo de aislamiento, pues han mostrado ser altamente sencibles a todas las cepas de dengue, y no requieren de grandes sofisticaciones.

El aislamiento de una entidad viral en estas líneas requiere de 10 días de incubación; por lo general no se observa efecto citopático en el primer pase, pero se llega a ver redondeamiento celular, disminución en el número de células en el cultivo y eventualmente la formación de sincicios.

Una vez logrado un aislamiento se procede a señalarlo primero como perteneciente a la familia de los flavovirus utilizando sueros polivalentes y la técnica de inmunofluorescencia y posteriormente, se le tipifica utilizando anticuerpos monoclonales específicos para cada serotipo.

Existen otras técnicas de identificación: como neutralización por plaqueo, Elisa contra monoclonales, fijación del complemento, entre otras.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. HARE, F.E.: The 1897 epidemic of dengue in North Queensland. Austr. med. Gaz. 17:98-107 (1998).
2. ANON: The dengue epidemic in Greece. League of Nations Mthl. epidemiol. Rep. 7: 73-90 (1928).
3. COPANARIS, P.: L'epidémie de dengue en Grèce au cours de l'été 1928. Inst. d'Hyg Publ. 20: 1590-1601 (1928).
4. KOKERNOT, R.H.; SMITHBURN, K.C.; WEINBREN, M.P.: Neutralizing antibodies to arthropod-borne viruses in human beings and animals in the Union of South Africa J. Immunol. 77:313-323 (1956)
5. THEILER, M. J.; CASALS, J.; MOUTOUSSES, C.: Etiology of 1927-28 epidemic of dengue in Greece. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 103: 244-246 (1960).
6. GAJDUSEK, D.C.: Acute infectious hemorrhagic fevers and - mycotoxicoses in the USSR. Med. Sci. Publ. No. 2 (AMSGS) (US Government Printing Office, Washington, D.C., 1953).
7. KERR, J.A.: The clinical aspects and diagnosis of yellow fever. In: Strode, G.K. Yellow fever, pp. 385-425 (Mc Graw-Hill, New York, 1951).
8. NOMURA, S.; AKASHI, K.: On fatal cases with hemorrhage - caused by dengue fever (in Japanese). Taiwan Igakkai Zasshi. 30: 1154-1157 (1931).
9. SMORODINTSEV, A.A.: Tick-borne spring-summer encephalitis Progr. med. Virol. 1: 210-247 (1958).
10. CHUMAKOV, M.P.: Tick-borne hemorrhagic diseases in the USSR Proc. 6th int. Congr. trop. Med. Malar. 5: 165-173 (1959).
11. WORK, T.H.: Russian spring-summer virus in India. Kyasanur Forest disease. Prog. med. Virol. 1: 248-279 (1958).
12. Epidemic hemorrhagic fever, Department of the Army Technical Bulletin TB Med. No. 240. May (1953).
13. QUINTOS, F.N.; LIM, L.E.; JULIANO, L.; REYES, A.; LACSON P.: Hemorrhagic fever observed among children in the - Philippines. Philipp. J. Ped. 3:1-19 (1954).

14. MACKENZIE, R.B.; Beye, H.K.; VALVERDE CH.L. and GARRON, H. Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia. I. A preliminary report of the epidemiological and clinical findings in a new epidemic area in South América. Amer. J. trop. Med. Hyg. 13: 620-625 (1964).
15. Proceedings of the Thai hemorrhagic fever symposium, Bangkok, Thailand, 10 and 11 Aug. 1961. SEATO med. Res. Monogr. 2 (1962).
16. Report of the WHO Seminar on mosquito-borne hemorrhagic fevers in Southeast Asia and Western Pacific Regions, WHO Regional Office for Southeast Asia. New Delhi, India. - (Nov. 1964).
17. Hemorrhagic fever in Calcutta Area. Indian J. Med. Res. 52: 633-734 (1964).
18. Outbreak of dengue and chikungunya virus in South India. Indian J. med. Res. 53: 689-812 (1965).
19. Mosquito-borne hemorrhagic fevers of Southeast Asia and Western Pacific Bull. WHO 35: 1-104 (1966).
20. HALSTEAD, S.B.; YAMARAT, C.: Recent epidemics of hemorrhagic fever in Thailand. Observations related to pathogenesis of a "new" dengue disease. Amer. J. publ. Hlth 55: 1386-1395 (1965).
21. HALSTEAD, S.B.: Dengue and hemorrhagic fevers of Southeast Asia. Yale J. Biol. Med. 37: 434-454 (1965).
22. HALSTEAD, S.B.: Mosquito-borne hemorrhagic fevers of South and Southeast Asia. Bul WHO 35: 3-15 (1966).
23. STRANSKY, E.; LIM, L.E.: On infectious acute thrombocytopenic purpura (hemorrhagic fever) observed in children in the Philippines. Ann paediat. 187: 309-320. (1956).
24. HAMMON, W. McD.; RUDNICK, A.; SATHER, G.E.: Virus associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. Science 131: 1102-1103 (1960).
25. ARRIBALZAGA, R.A.: Una nueva enfermedad a germen desconocido: hipertermia nefrotóxica, leucopénica y enantemática. Dia. Med. 27: 1204-1210 (1955).
26. PIROSKY, I; ZUCCARINI, J.; MOLINELLI, E.A.; DI PIETRO, A. BARRERA ORO, J.G.; MARTINI, P.; COPELLO, A.R.: Virosis hemorrágica del noroeste bonaerense. Endemoepidemiología, febril, enantemática y leucopénica. Comisión Nacional ad hoc para estudiar el brote de 1958. Talleres -

gráficos del Ministerior de Asistencia Social y Salud Pública, Buenos Aires, pp. 197 (1959).

27. MARTINEZ PINTOS, I.: Epidemiología del "mal de los rastrojos". Comisión de investigación científica, Gobernación, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Separata An. Com. Inv. Cient. Prov. Bs. As. VIII, p. 9-102 (1962).
28. MARGNI, R.A.; FERRARIO, J.C.; PRADO, J.H.; LOMBAN, F.: El mal de O'Higgins, un estado tóxico predisponente. Dia. 30: 2522-2524 (1958).
29. PARODI, A.S.; GREENWAY, D.J.; RUGIERO, H.R.; RIVERO, S. FRIGERIO BARRERA, J.M. de la ; METTLER, N. et. al: Sobre la etiología del brote epidémico de Junin. Dia. méd. XXX No. 62, 30: 2300-02 (1958).
30. PIROSKY, I. et. al: op. cit. pp. 107-130.
31. PARODI, A.S.; RUGIERO, H.R.; GREENWAY, D.J.; METTLER, N.; MARTINEZ, A.; BOXACA, M. and BARRERA, J.M. de la: Aislamiento del virus Junin (FHE) de los acaros de la zona epidémica (Echnolaelaps Echidnimus, Berlese), Prensa méd. argent. 46:2242-2244 (1959).
32. MILHOV, C.; TOUNG, C.V.; TOUNG, H.P.: A propos d'une - epidemie du type des fievres hemorragiques a Hanoi. Folia méd. 1: 169-173 (1959).
33. HALSTEAD, S.B.: VOULGAROPOULOS, E.; TIEN, N.H.; UDOMSAKDI, S.: Dengue hemorrhagic fever in South Vietnam; report of the 1963 outbreak. Amer. J. trop. Med. Hyg. 14: 819-830 (1965).
34. GOLDSMITH, R.S.; WONG, H.B.; PAUL, F.M.; CHAN, K.Y.; - LOH, T.F.; CHAN, Y.C.: Hemorrhagic fever in Singapore Lancet 1: 333-336 (1965).
35. RUDNICK, A.; TAN, E.E.; LUCAS, J.K.; OMAR, M.B.: Mosquito-borne hemorrhagic fever in Malaya. Brit. med. J. 1: 1269-1272 (1965).
36. RABINOVICH, A.: Personal communication.
37. MOLTENI, H.D.: "Mal de los rastrojos". Estudio estadístico epidemiológico de los brotes epidémicos de 1959, 1960 y 1961. Comisión de estudios y tratamiendo de la epidemia del Noroeste de la provincia de Buenos Aires. Talleres Gráficos del Ministerior de Asistencia Social y Salud Pública, Buenos Aires (1961).

38. WIEBENGA, NED H.; SHELOKOV, A.; GIBBS, C.J., Jr.; MACKENSIE, R.B.: Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia. II. Demonstration of complement-fixing antibody in patients' sera with Junin virus antigen. Amer. J. trop. Med. Hyg. 13: 626-628.
39. SARKAR, J.K.; CHATTERJEE, S.N.; CHAKRAVARTI, S.K.: Hemorrhagic fever in Calcutta: some epidemiological observations. 52: 651-659 (1964).
40. FABIE, A.E.: Clinical aspects of Philippine hemorrhagic fever. Document IR/Haem Fever Sem. 1/WP 55. WHO Seminar on mosquito-borne hemorrhagic fever in Southeast Asia and Western Pacific regions, Bangkok, Thailand - 19-26 (October 1964).
41. CHEW, A.; GWEE, A.L.; Ho, Y.; KHOO, O.T.; LEE, Y.K.; LIM, C.H.; WELLS, R.: A hemorrhagic fever in Singapore. Lancet 1: 307-310 (1961).
42. JOHNSON, K.M.; WIBENGA, N.H.; MACKENZIE, R.B.; KUNS, M.L.; TAURASO, N.M.; SHELOKOV, A.; WEBB, P.A.; JUSTINES, G. and BEYE, H.K.: Virus isolations from human cases of hemorrhagic fever in Bolivia. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 118: 113-118 (1965).
43. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. World Health Organization. Dengue in the Americas a report to the Director Third Meeting. May 1974. Bogota, Colombia. (1974)
44. D.G.E. El Dengue.- Un problema de salud pública en varias entidades federativas del país. Epidemiología, Boletín de la D.G.E., Vol. I. No. 1, (1981)
45. D.C.D. Dengue Type - 4 infections in U.S. travelers to the Caribbean, M.M.W.R., 30, 249. (1981)
46. MONATH, T. ELIASON, D. Vigilancia epidemiológica del dengue. Epidemiología, Boletín de la D.G.E., Vol. I. No. 6, (1981)
47. O.P.S. Resumen No. 1 sobre vigilancia del dengue 4. Jun., 19, (1981)
48. MOORE, C. G.; B.L. CLINE, E. RUIZ - TIFEN, D. LEE, H. - ROMMEY - JOSEPH, and E. RIVERA - CORREA. 1978. Aedes aegypti: En vironmental determinants of larval abundance and relation to dengue virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 27 (6): 1225-1231. (1978).

49. BOND, J.O. 1969. St. Louis encephalitis and dengue fever in the Carribean area: evidence of possible cross - protection. Bull. Wld. Hlth. Org. 40: 160-163. (1969)
50. BOND, J.O., and W. McD. Hammon. 1970. Epidemiological - studies of possible cross protection between dengue - and arboviruses in Florida. Amer. J. Epidemial. 92: 321-329. (1970)
51. ASHBURN, P.H., & CRAIG, C.F.: Experimental investigations regarding the etiolog of dengue fever. Jl. Infect. Dis. 4, 440, (1907)
52. GRAHAM, H.: Dengue. J.l. Trop. Med. London 6, 209.(1903)
53. ANDERSON, W.M.E.: Clinical observations on Sandfly fever in the P. District. J.L. Roy Army Med. Corps. 77, 225 (1941)
54. BANCROFT, T.L.: Etiology of dengue fever. Australasian. Med. 25: 17, (1906)
55. CARSON, D.A.: Naval Med. Bull. 4, #5, 1081, May. (1914)
56. HALSTEAD, S.B. 1965. Dengue and hemorrhagic fevers of - Southeast Asia. Yale. J. Biol. Med. 37: 434-451. (1965)
57. LIM, K.A. et al. 1964. Dengue type viruses esolated in - Singapore Bull. Wld. Hlth. Org. 30: 227-240. (1964)
58. STINEBAUGH, B.J.; SCHLOEDER, F.X.; JOHNSON, K.M.; MAC-KENZIE, R.B.; ENTWISLE, G. and DE ALBA, E.: Bolivian hemorrhagic fever. A report of four cases. Amer. J. Med. 40: 217-230 (1966).
59. NEFF, J.M., MORRIS, L., GONZALES - ALCOVER, R., COLEMAN, P.H., LYSS, S.B. and NEGRON, H. 1967. Dengue fever in a Puerto Tican community. Am. J. Epidemial., 86: 162-184. (1967)
60. LIKOSKY, W.H., CALISHER, C.H. MICHELSON, A.L., CORREA-CORONAS, R., HENDERSON, B.E., and FELDMAN, R.A. 1973. An epidemiologic study of dengue type 2 in Puerto Rico. A, J. Epidemiol., 97: 264-275. (1973)
61. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION and WELFARE, PUBLICA - HEALTH SERVICE, Center for Disease Control. 1977. Follow-up on dengue - Puerto Rico. Morbidity and Mortality Weekly Report, 25 (9): 65-66. (1977)

62. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH, EDUCATION AND WELFARE, PUBLIC HEALTH SERVICE, Center for Disease Control. 1977. - Follow-up on dengue - Jamaica. Morbidity and Mortality Weekly Report, 26 (9): 240. (1977)
63. SABIN, A.B. 1952. Research on dengue during World War II. A. J. Trop. Med. Hyg., 1: 30-50 (1952)
64. JOHNSON, K.M. et. al 1965 Virus esolations from human cases of hemorrhagic fever in Bolivia. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118: 113-118. (1965)
65. BOND, J.O., et. al. 1965. The 1962 epidemic of St. Louis encephalitis in Florida. Amer. J. Epidemial. 81: 392-404, 405, 414, 445, 427. (1965)
66. HAMMON, W., McD., RODERICK, A., and SATHER, G.E., 1960. Viruses associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. Science, 131: 1102-1103. (1960)
67. SATHER, G.E., and W. McD. HAMMON. 1970. Protection against St. Louis encephalitis and West Nile arboviruses by previous dengue virus (types 1-4) infection. Proc. - Soc. Exp. Biol. Med. 135: 573-578. (1970)
68. GEROGIADIS, J., et. al 1965. Dengue virus plaque formation in rhesus monkey kidney, cultures, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118: 3850388. (1965)
69. BUCLEY, S.M. 1961. Series propagation of types 1, 2, 3, and 4 dengue virus in He La cells with comomitant cytopathic effect. Nature 192: 778-779. (1961)
70. VECTOR TOPICS BIOLOGIA Y CONTROL DEL *Aedes aegypti*, 1980. U.S. DEPARTAMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. Center for disease control. Atlanta, Georgia.(1980)
71. HAMMON, W. Mc.D., A. RUDNICK and G.E. SATHER. 1960. Viruses associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. Science 131: 1102-1103. (1960)
72. HAMMON, W. Mc.D., and G.E. SATHER 1964. Virological findings in the 1960 hemorrhagic fever epidemic (dengue) Amer. J. Trop. Med. Hyg. 13: 629-641. (1964)
73. HALSTEAD, S.B., et. al 1965 Dengue hemorrhagic fever in - South Vietnam: Report. of the 1963 out bread. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 14:819-830. (1965)
74. BARNES, W.J.J., and ROSEN, L. 1974. Fatal hemorrhagic - disease and shock associated with primary dengue infection on a Pacific Islan. A, J. Trop. Med. Hyg. 23:495-506. (1974)

75. VAN DER SAR, A. An outbreak of dengue hemorrhagic fever. *Tro. Geogr. Med.* 25: 119-129. (1973).
76. YUILL, T.M. SUKHAVACHANA, P., NISALAK, A., and RUSSELL, P. k. Dengue-virus recovery by direct and delayed plaques in LLC-MK2 cells. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 17: 441-448. (1968)
77. RUSSELL, P.K. and NISALAK, A. Dengue virus identification by the plaque reduction neutralization test. *J. Immunol.*, 99:291-296. (1967)
78. KUBERSKI, T.T., and ROSEN, L. A simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. *A. J. Trop. Med. Hyg.* 26: 533-537. (1977)
79. KUBERSKI, T.T., and ROSEN, L. Identification of dengue viruses using complement-fixing antigen produced in mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26: 538-543. (1977)
80. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Status of the Aedes aegypti: Erradication Campaign in the American. *Pan Am. Health Organ. DCP/DVC/AMR/0700*, Washington, D.C. May. 1979. 9 p. (1979)