UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

"I Z T A C A L A"

SEROEPIDEMIOLOGIA DEL DENGUE EN COMUNIDADES DE LA FRONTERA SUR DEL ESTADO DE CHIAPAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

RAMON BRUNO AVILA

MEXICO, D. F. 1987

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A mi madre: Enriqueta Avila Hernández.

Con cariño a la encauzadora de mis primeros pasos hacia la superación y el esfuerzo; por el gran apoyo moral, dedicación, desvelos y amor, que en todo momento me ha brindado, dándome la oportunidad de ser alguien en la vida y con la cual he logrado terminar mi carrera profesional, mi primer meta; siendo para mi la mejor de las herencias.

A la Profesora Flora Pérez Enríquez (Q.P.D.)

Como un testimonio de gratitud y eterno agradecimiento por sus sabios consejos que siempre me dió, a su acción alentadora y orientadora, a su ética de responsabilidad, rectitud humanismo y honestidad y que siento no haya podido llevar a ver esta meta realizada.

A su memoria

A mis hermanos:

Adela y Jorge por estar a mi lado en los momentos buenos y malos y que gracias a sus esfuerzos hicieron posible realizar mi meta.

A mis sobrinos:

Silvia, María Elena y Daniel, que este trabajo les sirva de estímulo en la dedicación al estudio.

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Dr. Juan Pablo Guiscafré Gallardo mi más sincera gratitud por su asesoría profesional que me brindó para la realización del presente trabajo.

Con un agradecimiento muy especial a la Q.B.P. María Teresa Alvarez y Muñoz por el gran apoyo que me dió para la finalización de la última etapa de mi carrera.

Asimismo con un profundo y sincero cariño a todas aquellas personas que me brindaron su amistad, apoyo, consejos y palabras de aliento para que siguiera adelante, hechos que siempre estarán presentes durante toda mi vida.

Mil Gracias.

(III)

" Toda obra grande o pequeña,

importante o leve;

Constituye la huella del paso de un

hombre sobre la tierra.

Este rastro podrá ser imperecedero

o efímero, pero siempre es

trascendente,

construir una obra significa dar a

los demás un poco de quien lo

fabrica,

dar un poco de uno mismo ".

I N D I C E

PAG.

RESUMEN V

INTRODUCCION I

PROPIEDADES DEL VIRUS 6

MANIFESTACIONES CLINICAS 8

EPIDEMIOLOGIA 11

OBJETIVO 15

MATERIAL Y METODOS

A - CARACTERISTICAS DE LA ZONA ESTUDIADA.... 17

B.- RECOLECCION DE MUESTRAS 18

C.- PREPARACION DEL ANTIGENO 19

D.- TRATAMIENTO DE MUESTRAS SERICAS 21

E.- TITULACION DE LA HEMAGLUTININA VIRAL 22

F.- PRUEBA DE INHIBICION DE LA HEMAGLUTINACION 23

RESULTADOS 26

DISCUSION Y CONCLUSIONES 27

BIBLIOGRAFIA 31

RESUMEN

Se cuantificaron los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra el virus del dengue, en individuos provenientes de campamentos guatemaltecos y comunidades de mexicanos ubicados en Chiapas, México. La frecuencia de positividad fué de 16.3% para los mexicanos y 11.2% para los guatemaltecos ($p<0.05$), siendo para estos últimos la mayor frecuencia en los campamentos mejor comunicados (zonas I y III) que en los de la zona II ($p<0.0001$).

El 63% de los guatemaltecos presentaron títulos mínimos de positividad de 1:20, en tanto que el 60% de los mexicanos mostraron títulos mayores ($p<0.02$), lo que sugiere un contacto más reciente de éstos con el virus. La menor frecuencia de positividad encontrada en nuestro estudio pudiera deberse a la baja densidad de población de las comunidades estudiadas, hecho que apoya el bajo riesgo o de presentación de casos graves de dengue en este tipo de comunidades rurales.

INTRODUCCION

La enfermedad del dengue es actualmente un problema de salud que afecta a diversos paises de Africa, Australia y América, - debido a los frecuentes brotes epidémicos que se han presentado en estas áreas.

Los primeros antecedentes históricos que se tienen del dengue parten de los siglos XVIII y XIX, donde se registraron pequeñas y grandes epidemias causadas probablemente por esta enfermedad (5, 7, 36), a la cual se le ha conocido con diferentes nombres tales como: trancazo, bouquet, fiebre quebranta huesos (2), fiebre hemorrágica de Tailandia o de Filipinas, etc. (3), siendo denominada oficialmente por el Royal Collage of Physicians of London en el año de 1869 como " dengue " cuya palabra es de origen hispano antillano y alude a la marcha especial del paciente debido a las - mialgias y artralgias que lo afectan (3, 5).

Hasta finales del siglo XIX se desconocía aún el agente etiológico, sin embargo las manifestaciones clínicas y la epidemiología eran la única forma de reconocer esta enfermedad, con un - amplio margen de error en los diagnósticos retrospectivos (5). A- causa de esto, se inician a principios del siglo XX los primeros - trabajos de investigación.

En 1903, Graham H. realizó los primeros estudios experi- -

mentales sobre el dengue en cuatro voluntarios humanos sanos, - siendo estos expuestos dentro de una red de mallas finas a las picaduras de mosquitos que recientemente habían picado a pacientes con dengue. Tres de los voluntarios presentaron las manifestaciones típicas de la enfermedad. En base a esto, Graham concluyó que la enfermedad era producida por un protozoario similar al del paludismo y, era transmitida por un mosquito al cual no identificó - plenamente (19).

Para 1907 se realizó una investigación más detallada por - Ashburn, P. M. y Craing, C.F. quienes demostraron que los causantes del dengue eran organismos ultramicroscópicos (virus) (1). Investigaciones posteriores efectuadas por Cleand, J.B. y col. en - 1918 en Australia comprobaron que el mosquito Aedes aegypti era el transmisor del dengue (11). En 1931, Simmons confirmó que la transmisión del dengue en las Islas Filipinas era causada por otro mosquito, el Aedes Albopictus el cual afectaba tanto al mono como al hombre (37).

Hasta 1945 la enfermedad del dengue se consideraba limitada a los continentes de Africa y Australia, pero debido a la segunda Guerra Mundial, que involucró a diversos paises, provocó, que se dieran movimientos migratorios de un país a otro, siendo un -

factor que contribuyó importantemente a la diseminación del virus.

Estas migraciones trajeron como resultado la aparición de - los primeros brotes de dengue en el norte de Japón, Nueva Guinea, Fiji, Hawai e India, en donde Sabin y col. realizaron investigaciones a partir de estos brotes epidémicos, lográndose aislar e identificar a los seropos 1 y 2 del virus (31, 32).

Posteriormente en 1950, más de 350 000 personas de seis paises del Sudeste Asiático fueron hospitalizadas debido a la fiebre - hemorrágica por dengue (FHD), con síndrome de choque asociado (DSS) (2). A partir de dichos brotes, Hammon y col. descubrieron los serotipos 3 y 4 del virus (21, 22).

Para la década de los 60's en el área del Caribe los serotipos 2 y 3 del virus dengue afectaron a miles de personas siendo - Puerto Rico, República Dominicana, Jamaica y Venezuela en donde se notificó un número mayor de casos (3, 23, 40). En 1971, el dengue se extendió a otros paises como: Bahamas, Haití, Colombia, - Trinidad y Tobago debido a un intercambio económico, diplomático y cultural entre estos paises (3).

Hacia febrero de 1977 se presentó en la isla de Jamaica un - brote epidémico de dengue clásico por el serotipo 1, donde se noti

Figura 1. Brotes epidémicos por el serotipo 1 de dengue en América reportados en los años 1977-1980.

ficaron más de 100 mil casos (17), este brote rápidamente se extendió a las Islas Bahamas, Cuba, Puerto Rico, Trinidad y Tobago, Haití y República Dominicana (3, 5), expandiéndose posteriormente a Centro América, afectando a Bélice y Guatemala. Hacia finales de 1978 se reportan los primeros 38 casos en México (Tapachula, Chiapas) (4). A partir de ese año, se informa de brotes epidémicos en la mayoría de los estados de la República Mexicana, con aproximadamente 60 000 casos entre 1979 y 1980. A su vez el Centro para el Control de las Enfermedades (C.D.C.) de los E.U.A. reporta en 1980 los primeros 10 casos por el serotipo 1 en el estado de Texas (4). (Figura 1).

Para 1981 se notificaron a nivel nacional un total de 18 600 casos por el Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.), así mismo, el C.D.C. informa por primera vez la introducción del serotipo 4 en América (8).

La Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud notificó durante 1982, 1983 y 1984 un total de 30 904, 23 513 y 27 312 casos respectivamente. Durante 1983-1984 se registraron tasas de ataque superiores de 100 por cada 100 000 habitantes en los estados de Oaxaca, Guerrero, Puebla y Chiapas, detectándose la presencia del serotipo 4 en Oaxaca, el 2 en Guerrero y el 1 en

los estados de Puebla y Chiapas (24).

En el año de 1985 el Departamento de Salud y Servicios Humanos, C.D.C. de San Juan Puerto Rico, reportó un total de 16 182 casos en México, aislándose los serotipos 1, 2 y 4 del virus. Siendo informados algunos casos de enfermedad hemorrágica, sin embargo, ninguno de ellos fué confirmado como dengue (13).

PROPIEDADES DEL VIRUS.

El virus del dengue, del género Flavivirus de la familia - Togaviridae ha sido recientemente propuesta como familia Flaviviridae (41), es de forma esférica, de aproximadamente 500 Å de - diámetro. Su genoma consiste de una cadena sencilla de RNA, de polaridad positiva, con un coeficiente de sedimentación de 45 S y - de peso molecular (p.m.) aproximado de 4.2×10^6 daltones, conteniendo 12 000 pares de bases.

El virus contiene tres proteínas estructurales; la proteína de la nucleocápside V2 también llamada C. de p.m. de 14 000 la cual está rodeada por una bicapa de lípidos e interaccionando con la proteína V3 ó E (envoltura) de p.m. de $\approx$51 a 60 mil daltones y es en la que se residen los epitopes de la hemaglutinación, neutralización y los tipo específico. Y por último la proteína V1 ó M (membrana) p. m. de 8 000. La localización de ésta en el virión no es clara, - pero se postula que es una proteína integral de la membrana que - participa en la estabilidad de la estructura del virión. (Figura 2).

La replicación y transcripción del virión se lleva a cabo en - el citoplasma (asociada a membranas) de las células infectadas. - (33, 38).

##...

El número y función de las proteínas no estructurales no está bien determinado, pues dependiendo del sistema de células donde se lleve a cabo la infección se encontrarán diferencias entre las - células de mamífero y células de artrópodo. Sin embargo, generalmente se pueden encontrar entre doce y quince proteínas específicas del virus en cultivos infectados. El ensamblaje y la liberación de los virus no ha podido definirse claramente, pero se sabe que - existe probablemente gemación en la liberación del virión. (14).

Entre las propiedades biológicas más importantes se encuentra que los viriones pueden replicarse en forma natural en: mosquitos, monos y humanos, experimentalmente se ha replicado además en embriones de pollo y de ratón así como, en cultivos celulares - primarios y líneas celulares establecidas (VERO, HeLa, KB, C_6/36, TRA-284, etc.)

Por otro lado el virión tiene la capacidad de aglutinar eritrocitos de ciertas aves (gansos, pollos, patos), y tiene como característica especial, el ser pH dependiente (33).

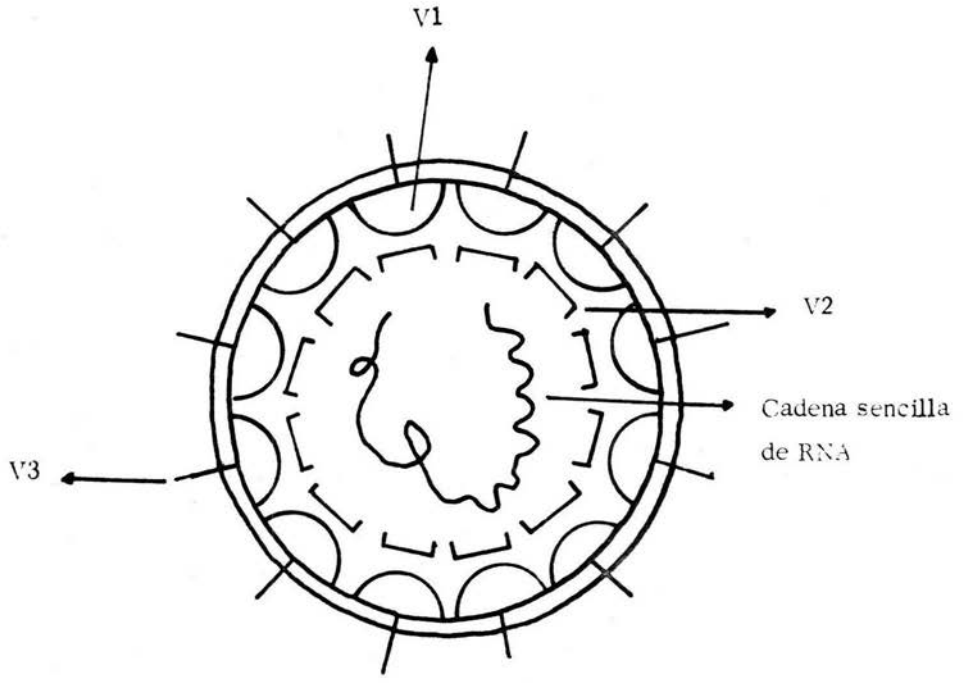


Figura 2.- Modelo tentativo de la organización de un flavivirus. Los peplómeros consisten de la glycoproteína V3. Una segunda proteína de envoltura no-glicosilada, V1 aparece estar situada en la bicapa lípidica. - La proteína de cápside, V2, con el RNA genómico, forma la nucleocápside con simetría cúbica.

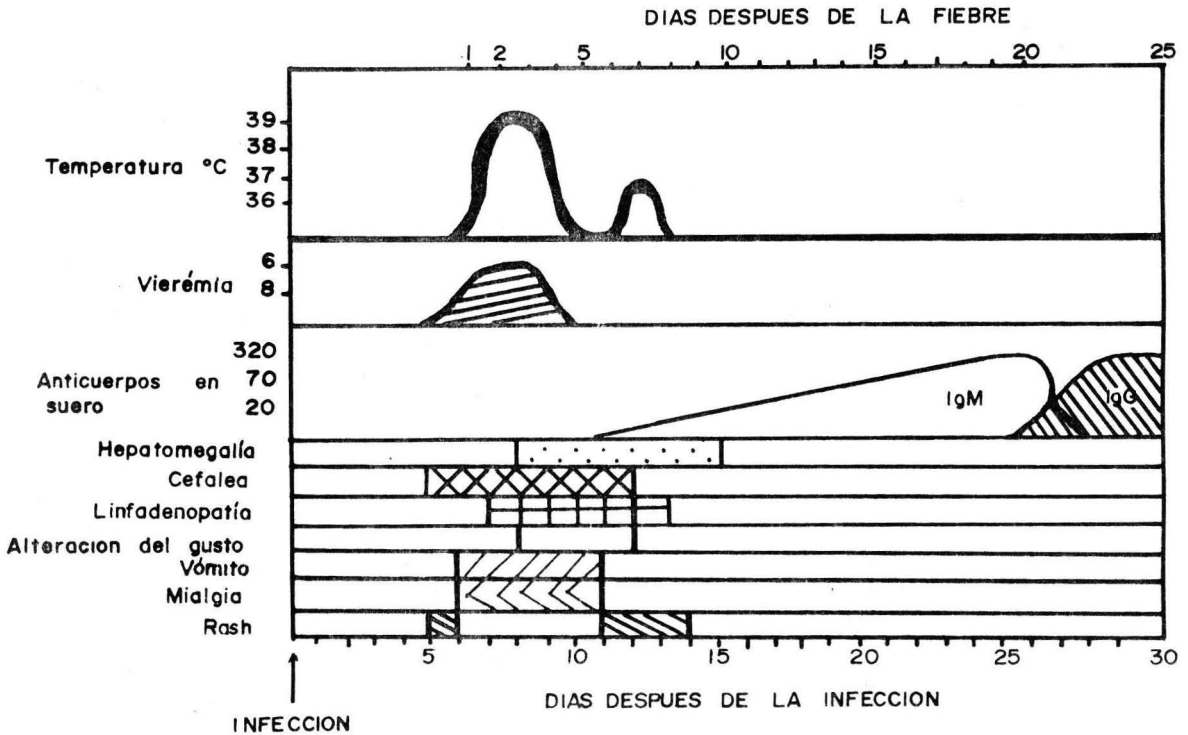
MANIFESTACIONES CLINICAS DEL DENGUE

La enfermedad del dengue es una virosis sistemática aguda, causada por los cuatro serotipos del virus (38). Esta enfermedad es transmitida de una persona a otra por la picadura de la hembra hematófaga de las especies de mosquito *Aedes aegypti* y *A. albopictus* (6).

Se han establecido dos entidades clínicas asociadas con el virus dengue que son:

1.- Dengue " clásico " o dengue primario. Su cuadro clínico se manifiesta en los lactantes y niños pequeños como una infección acompañada de fiebre, rinorrea, ligera inflamación de la garganta y tos, los cuales duran unos cuantos días. En niños mayores de 15 años y adultos se inicia con fiebre elevada después de un período de incubación que varía de 3 a 15 días (presentándose una curva febril en silla de montar o bifásica que persiste de 5 a 7 días), cefálea, éxantema maculopapular que aparece a los 3 o 4 días después del período febril, mialgias y artralgias intensas, dolor retrorbitario, ligera inflamación en la garganta, linfadenopatía, rinorrea, fotofobia, congestión conjuntival, alteración del sentido del gusto que es un dato bastante frecuente al inicio de la enfermedad y la

Figura 3. Evolución clínica del dengue clásico o dengue primario.

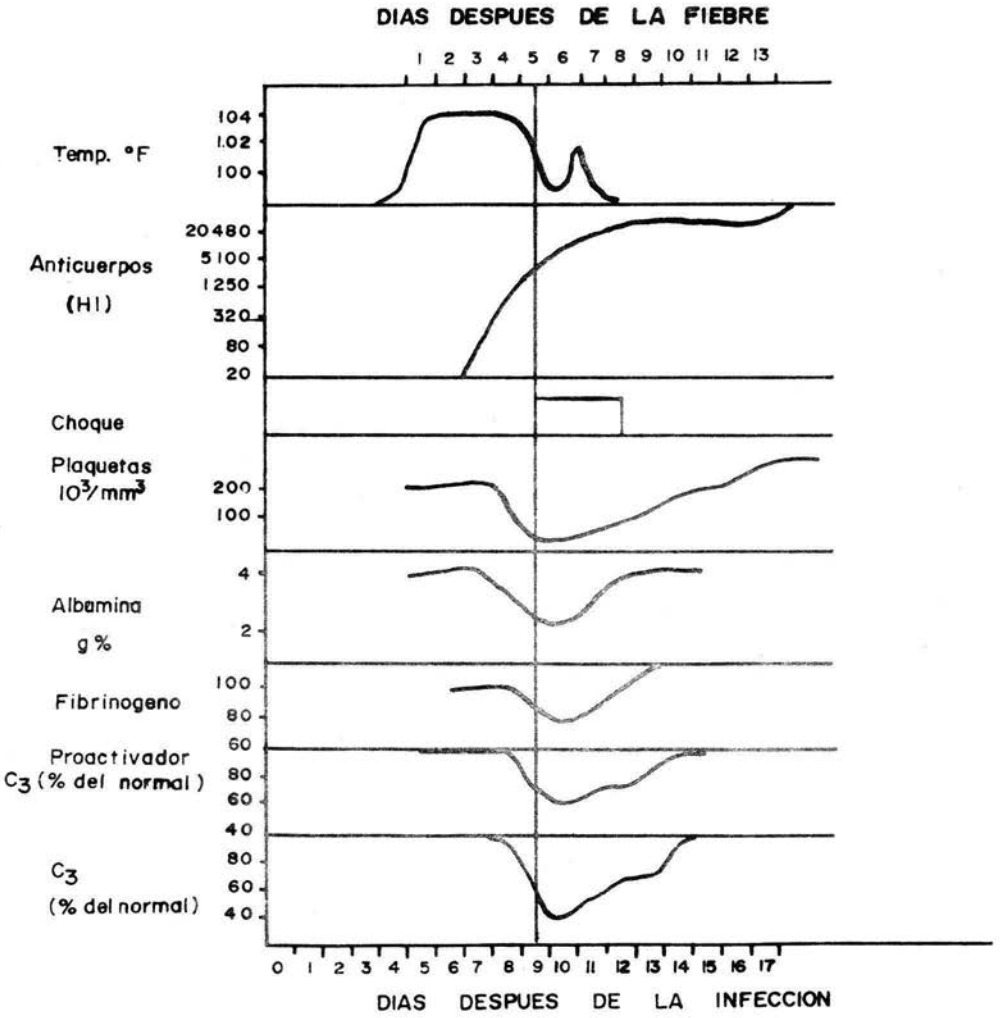


prueba del tornique es positiva. Asimismo, se han descrito otros síntomas como: anorexia, molestias epigástricas con cólico y hepatomegalia (Figura 3).

Estas manifestaciones clínicas ocasionan una incapacidad temporal al paciente el cual puede presentar astenia, fatiga y trastornos depresivos durante la convalescencia (5, 7, 25, 33).

2.- Dengue secundario ó Fiebre hemorrágica de dengue (DHF) con síndrome de choque asociado (DSS). Esta forma clínica se ha presentado en el Sudeste Asiático, afectando a niños menores de 15 años (21). Su cuadro clínico se presenta en general en personas con antecedentes de haber padecido dengue y que, posteriormente sufren una reinfección causada por otro serotipo diferente al de la primo-infección. Se inicia como el dengue clásico, con fiebre y vómitos, presentándose después manifestaciones hemorrágicas, petequias, epistaxis, gingivorragias, sangrado (en la mucosa gastrointestinal, en el miocardio y en la cavidad pleural) y hepatomegalia. Los reportes del laboratorio indican disminución de la mayoría de los componentes del complemento, trombocitopenia, hematuria, hipoproteinemia, hipoalbúminemia, hemoconcentración por aumento de la permeabilidad capilar, hematócrito elevado por lo menos 20% y leucopenia. En casos más graves de DHF se presenta pulso débil

Fig. 4 Esquema que indica los datos clínicos y de laboratorio típicos de casos representativos de DSS.



y rápido, tensión arterial baja con una presión diferencial (menor - de 20 mm Hg), con disminución de la frecuencia cardiaca, condu- - ciendo a un estado de choque e inclusive el fallecimiento del paciente (Figura 4). Diversas investigaciones reportan que las formas graves de DHF/DSS presentan una letalidad del 10 al 40% (34).

EPIDEMIOLOGIA.

El dengue es endémico en las zonas tropicales y subtropicales comprendidas entre las latitudes 45° norte y 35° sur del Ecuador. La transmisión de los cuatro serotipos del género Aedes, los cuales se infectan después de " chupar " la sangre de un paciente virémico. El virus se multiplica abundantemente en las células del vector, manteniéndose infectante durante el resto de su vida. Las dos especies de mosquitos transmisores son:

1.- Aedes albopictus: Esta especie es de hábitos diurnos y pica al hombre, así como a las aves, caballos, perros y monos. Su actividad máxima del mosquito es registrada por la tarde de 15 a 18 hrs. p.m. y la mínima por la mañana de 6 a 8 a.m. En cuanto a su nabitat se refiere, es principalmente selvático, localizándose en los troncos huecos de árboles y bambús; por lo consiguiente este vector se halla localizado en las zonas selváticas del Sudeste Asiático, Africa e Islas del Pacífico y recientemente se reportó su presencia en el continente americano (6).

2.- Aedes aegypti: El transmisor de la enfermedad es la hembra hemátofaga del mosquito, la cual ha sufrido una adaptación progresiva desde su hábitat selvático original hasta su forma domés

tica actual debido a su limitada capacidad de vuelo, tanto horizontal como vertical, obligándola a buscar su alimento en distancias - cortas, esto es, en los asentamientos humanos, sitio ideal para - su sobrevivencia.

Por otra parte un hecho que ha influído importantemente en el ciclo biológico del vector y su adaptación, han sido los desechos originados por la sociedad industrial como son: latas vacías, llantas viejas, floreros, cisternas, canales de agua u otro objeto cualquiera de manufactura humana que pueda retener agua y que sirva como un medio para proveer el hábitat adecuado para el desarrollo de huevecillos del mosquito. Dichos huevecillos resisten la sequía y las temperaturas tan bajas como -8° C por tiempo prolongado, lo que permite asegurar la supervivencia de la especie. Al iniciarse la estación lluviosa, los huevecillos se desarrollan en aguas estancadas o basura, emergiendo una larva muy activa, la que reposa bajo la superficie del agua y se fija por medio de un sifón respiratorio; el estadío larvario tiene una duración entre 5 a 6 días. - Al continuar su metamorfosis se transforma en púpa o ninfa y por último, después de 48 a 72 hrs. eclosiona el imago o mosquito adulto. Estos son muy sensibles al frío y mueren al quedar expuestos- a temperaturas de 6° C por 24 horas. (4).

...

Cabe mencionar que debido a las características del vector - arriba mencionadas junto con las condiciones ambientales prevalentes en los trópicos, se explica la transmisión activa de la enfermedad en las localidades situadas por debajo de los 1000 metros sobre el nivel del mar. Por otro lado es de notarse que al crecimiento acelerado de las poblaciones humanas en las regiones tropicales - del mundo, les ha faltado un programa de lucha antiaédica, incluyendo, un sistema de vigilancia. Asimismo, la movilidad creciente de poblaciones susceptibles han marcado las condiciones casi ideales para la continuidad de la enfermedad en su variante endemo-epidémica en todo el mundo, amenazando en convertirse en un problema de salud pública de proporciones insospechadas.

Un ejemplo de la magnitud de este problema fué en 1981 en - una provincia de la Habana, Cuba; en donde la fiebre hemorrágica del dengue (DHF) con síndrome de choque asociado (DSS) se presentó en forma simultánea en tres lugares diferentes de la isla y se difundió con rápidez por todo el país debido a la alta densidad del vector. Al finalizar la epidemia se habían notificado 344 203 casos, de los cuales 9 203 se consideraron graves, 1 109 muy graves y hubo 159 defunciones, entre adultos y niños cuyas edades de estos últimos oscilaban entre 2 meses y 12 años (el 50% de ellos tenía 1 y 5

...

años de edad) (20). Por estudios epidemiológicos efectuados en el - transcurso de la epidemia se encontró que la tasa de ataque está - en función de los individuos susceptibles cuando ocurre la introducción de un nuevo serotipo (20).

Otras investigaciones revelan que la infección primaria del - dengue en áreas endémicas a diferencia de otras virosis, se padece después del primer año de vida: en parte, por la protección de los anticuerpos maternos y por la menor exposición a los mosquitos. - En cuanto al dengue hemorrágico, se ha observado un aumento de casos dentro del primer año de vida (7-8 meses), cuando la infección se amplifica por el fenómeno de acrecentamiento inmunológico (facilitación), por la acción de anticuerpos maternos residuales - (no neutralizantes), donde los virus son opsonizados y rápidamente fagocitados por los mononucleares fagocíticos, mediante los receptores de Fc en los macrófagos. La activación de los macrófa- - gos conduce a la liberación de factores vasoactivos del sistema del complemento, así como sustancias que afectan la permeabilidad vascular. Iniciándose la cascada de la coagulación con estado de choque y manifestaciones hemorrágicas (25).

Estos hechos revelan o indican que cualquier país, entre ellos México, puede verse afectado, por una situación similar a la de Cu

ba, ya que en la mayoría de ellos, existen las condiciones ambientales ideales para la circulación del vector junto con una falta de control eficaz del mismo.

En la década de los 60's las autoridades sanitarias internacionales, entre ellas, la Organización Panamericana de Salud - - - (O.P.S.) se lanzaron a la tarea de erradicar al Aedes segypti - del Continente Americano. Para el año de 1964 se declaró erradicado el vector de nuestro país, Centro América y en América del - Sur, sin embargo a pesar de los esfuerzos por mantener esta situación, México se vió nuevamente reinfestado por el Aedes en 1965, lo que permitió la entrada de la enfermedad en nuestro país, al descuidarse la vigilancia del vector y subestimar la presencia del virus en las zonas fronterizas, situación que prevalece actualmente (6, - 15, 24).

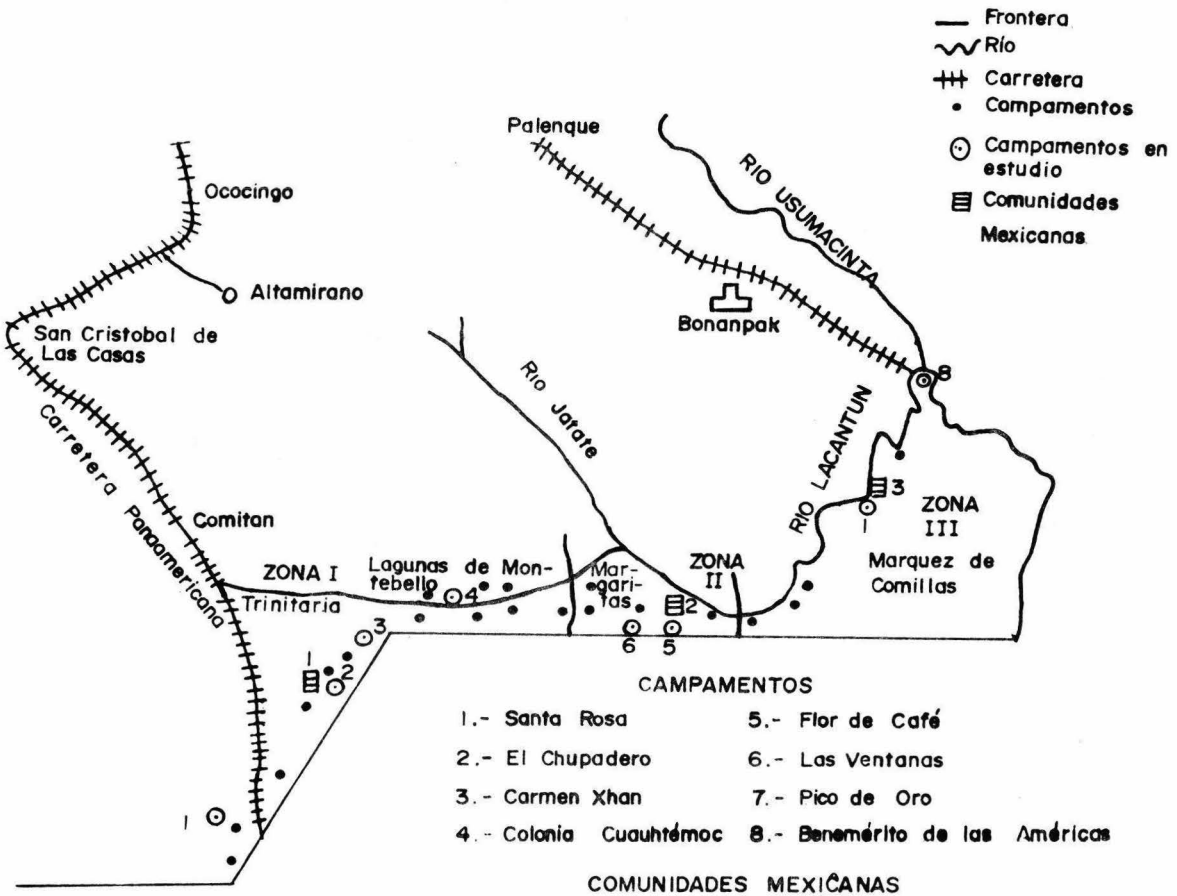
De ahí que el control epidemiológico de la enfermedad en - nuestro país influirá en la prevención de casos severos, al poder - determinarse poblaciones susceptibles y programas de control del transmisor.

OBJETIVO.

El presente trabajo se realizó con el objeto de conocer la -

prevalencia de anticuerpos contra el virus del dengue en muestras de suero de refugiados guatemaltecos y comunidades de mexicanos, ubicados en la frontera sur de nuestro país y de esta manera establecer la proporción de la población expuesta al riesgo de FHD/DSS.

Fig. 5 CAMPAMENTO DE REFUGIADOS GUATEMALTECOS Y COMUNIDADES MEXICANAS INCLUIDAS EN EL ESTUDIO



MATERIAL Y METODOS.

A.- Características de la zona estudiada.- El presente trabajo se realizó a lo largo de la frontera sur de México (Chiapas) - con Guatemala. El estado de Chiapas está situado en la porción - meridional de la República, abarcando una área de 73 887 kilómetros cuadrados, la cual colinda al norte con el estado de Tabasco, al noreste con Guatemala, al sur con el océano pacífico, al oeste con el estado de Oaxaca y Veracruz, su clima es tropical y templado con lluvias abundantes en verano.

La frontera sur de México, ha sido por años una zona de intercambio económico activo con Guatemala y Bélice, motivo por - el cual hay movimientos poblacionales temporales a lo largo de la línea fronteriza. Los guatemaltecos han sido trabajadores temporales que se han empleado especialmente en las fincas cafetaleras. En época más reciente, las plantaciones algodoneras de la - llanura costera de Chiapas atrajeron trabajadores temporales (39). Sin embargo, a partir de 1981 por motivos políticos se internaron en nuestro país familias completas de guatemaltecos cuya calidad migratoria fué de refugiados. Es difícil precisar el número de - personas que han inmigrado por estos motivos; sin embargo, la - Comisión de Ayuda a Refugiados (COMAR) indentificó alrededor -

de 80 campamentos con un total de 50 000 individuos (27).

Los individuos incluídos en este estudio provienen de asentamientos ubicados a lo largo de la frontera sur de México (Chiapas) con Guatemala. La que comprende desde la zona de Marquéz de - Comillas hacia el este, hasta la zona de Trinitaria hacia el oeste. Para los fines del estudio el área fué dividida en tres zonas diferentes; la zona I que incluye Trinitaria y Lagunas de Montebello, con clima templado y es la de mayor desarrollo económico, la zona II Margaritas, de clima tropical selvático y escaso desarrollo económico y la zona III Marquéz de Comillas con clima tropical selvático y mejor comunicada que la zona II (Figura 5).

Mediante muestreo estratificado tomando en cuenta el tamaño de los asentamientos, se seleccionaron ocho campamentos de - refugiados, siendo éstos: Santa Rosa, El Chupadero, Carmen Xhan y Colonia Cuauhtémoc de la zona I, Flor de Café y Las Ventanas - de la zona II y Pico de Oro y Benemérito de las Américas en la zona III. En cada zona se seleccionó una comunidad mexicana representativa: Delicias en la zona I, Flor de Café en la II y Pico de Oro en la III.

B.- Recolección de Muestras.- En cada campamento ó co-

munidad mediante un muestreo aleatorio simple, se seleccionaron y estudiaron entre los guatemaltecos 158 familias con 879 individuos y 125 familias con 473 individuos de las comunidades mexicanas.

La recolección de datos fué realizada mediante una visita domiciliaria efectuada por un equipo de trabajo que incluyó: dos médicos, un epidemiólogo y un técnico de laboratorio del Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.), los datos recabados fueron: edad, sexo, lugar de origen, tiempo de residencia en el asentamiento y hábitos migratorios de cada individuo. En cada caso se tomó mediante punción una muestra de sangre venosa, posteriormente se realizó la separación del suero correspondiente, el cual permaneció congelado a -70° C en el Laboratorio de Virología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional (I.M.S.S.).

C.- Preparación del antígeno.- Como fuente de antígeno se utilizó el virus dengue tipo I (cepa Hawaii), proporcionado por la Dra. María Luisa Zárate del Instituto Nacional de Enfermedades Tropicales de la Secretaría de Salud.

2.- La replicación del antígeno viral se efectuó mediante la inoculación con una jeringa de 1 ml. (insulina) por vía intracerebral

de ratones lactantes (de uno a dos días de nacidos) (Cepa Balb/C), con 25-30 ul de una suspensión de cerebro de ratón al 20% diluída 1:100 en buffer de fosfatos pH 7.4.

3.- Los animales que murieron dentro de las primeras 24 horas post-inoculación fueron descartados pues su muerte se atribuyó a un posible traumatismo al momento de inocular. Los ratones restantes se mantuvieron en observación durante seis a doce días, hasta los signos y síntomas (parálisis u otros signos referentes al desarrollo patológico del sistema nervioso central) de la infección viral. Los ratones enfermos fueron congelados a -70° C para su conservación.

4.- A los ratones congelados se les desinfectó con alcohol al 70% para extraerles el cerebro y se calculó el peso exacto de los cerebros cosechados.

5.- Posteriormente, se homogeneizaron los cerebros con 4 volumenes (P/V) de una solución acuosa de sacarosa al 0.5% durante 3 ciclos de un minuto c/u.

6.- Al homogenado se le añadieron 20 volúmenes de acetona fría en una proporción de 9 ml. del homogenado en 180 ml. de acetona, conservándolo en un baño de hielo por una hora.

7.- Se centrifugó el homogenado a 1500 rpm/5 minutos a - 4° C y, se eliminó la acetona dentro de un frasco de succión conteniendo una solución de hipoclorito. Al precipitado se le añadieron 180 mililitros de acetona fresca. El sedimento se rompió y pulverizó con un émbolo de teflón. El frasco se conservó en refrigeración aproximadamente 2 horas.

8.- Se retiró la acetona con succión y el sedimento se distribuyó formando una capa delgada en el interior de un matraz para secar el sedimento bajo vacío durante una hora.

9.- Una vez obtenido el antígeno seco, se resuspendió en borato salino estéril a pH 9.0 en un volúmen igual al de 0.4 del volúmen original, dejándose hidratar el antígeno toda la noche a 4° C.

10.- Posteriormente se centrifugó a 10000 rpm/60 minutos a 4° C y al sedimento obtenido se le añadió Tris 1.0 M (preparado en 0.85% NaCl) hasta obtener una concentración final de 0.1 M de Tris. El antígeno fué titulado mediante el ensayo de hemaglutinación con eritrocitos de ganso al 8% de acuerdo al C.D.C. (9).

D.- Tratamiento de muestras séricas.- Con el objeto de - eliminar los inhibidores y aglutininas inespecíficos de las mues--

tras, los sueros fueron tratados con una suspensión de kaolín y absorbidos con eritrocitos de ganso mediante el siguiente procedimiento.

1.- En un tubo de 13 x 100 mm. se agregó un volúmen de suero, cuatro volúmenes de borato salino (BS) pH 9.0 y cinco volúmenes de kaolín.

2.- Se mezcló vigorosamente y se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos, agitando a íntervalos de 5 a 10 minutos.

3.- Al sobrenadante se agregaron 0.1 ml. de eritrocitos de ganso al 50% y se mantuvo en baño de hielo durante 20 minutos con agitación ocasional. Centrifugando finalmente durante 10 minutos a 1500 rpm en centrífuga refrigerada.

4.- El sobrenadante obtenido representó una dilución 1:10 del suero original y fué empleado en la prueba de inhibición de la Hemaglutinación.

E.- Titulación de la hemaglutinina viral.

1.- El antígeno liofilizado se rehidrata con agua bidestilada a 4° C durante toda la noche.

...

2.- Se realiza una dilución 1:10 del antígeno en 0.4% de borato salino-albúmina bovina estéril (BABS), pH. 9.0.

3.- Se realizan diluciones seriadas del antígeno (volúmen de 50 µl.) en una placa de microtitulación. Será necesario probar diferentes pH's (pH 5.8-7.0) en caso de no saber cual es el óptimo al que aglutinan los eritrocitos.

4.- Posteriormente se añaden 50 µl. de una suspensión de eritrocitos de ganso al 8% en Dextrosa-Gelatina-Veronal (DGV), diluídos 1:20 en el buffer con el pH adecuado.

5.- Se deja incubar la placa o placas a temperatura ambiente (22 a 27° C) durante 30 a 45 minutos y se observa (leer) la hemaglutinación. (Figura 6).

6.- El título del antígeno (hemaglutinina) es la dilución más alta, capaz de aglutinar a todos los glóbulos rojos, ésto es igual a una Unidad Hemaglutinante (UHA).

F.- Prueba de Inhibición de la Hemaglutinación (I.H.)

Determinación de anticuerpos:

1.- A partir de la dilución 1:10 del suero (muestra procesada)

se realizan diluciones seriadas al doble en micro-placas, en el buffer BABS pH 9.0, agregando a cada pozo 25 µl. de cada dilución del suero.

2.- Se agregan 25 µl. en cada pozo de una dilución del antígeno conteniendo de 4 a 8 UHA, mezclando ambos reactivos en un vibrador e incubando las placas a 4° C durante 18 horas.

3.- Al día siguiente, se colocan las microplacas a temperatura ambiente y se corrobora la cantidad de UHA, mediante una retro titulación del antígeno diluído.

4.- Finalmente, se agregan 50 µl. de una suspensión de eritrocitos de ganso al 8% en DGV diluídos 1:24 en buffer con pH adecuado, a todos los pozos. Se incuba a temperatura ambiente durante 45-60 minutos y se observan los resultados (lectura de placas), de acuerdo al patrón mostrado en la Figura 6.

5.- En cada prueba deben incluírse los siguientes controles:

a) Suero positivo.

b) Suero negativo.

c) Control de cada suero.

d) Control de eritrocitos.

6.- Se considera positiva una muestra de suero, cuando presenta un título de 1:20 de acuerdo al criterio del C.D.C. (9).

Figura 6

Patrones de hemaglutinación para placas de microtitulación.

Pozo # 1 Pozo # 2 Pozo # 3

1.- No hemaglutinación o inhibición de la hemaglutinación por anticuerpos homólogos. Como se observa en el pozo # 1, los eritrocitos se sedimentan en el fondo del pozo formando un botón.

2.- Hemaglutinación parcial. En el pozo # 2 se observa la formación de un anillo de eritrocitos aglutinados, alrededor de un botón de células.

3.- Hemaglutinación completa. En el pozo # 3 se observa una capa o malla uniforme de eritrocitos y se lee como la dilución final de la titulación de hemaglutinación de un virus.

RESULTADOS.-

Después de procesar 1 352 muestras, 879 provenientes de - individuos guatemaltecos y 473 de mexicanos, se encontró que la - frecuencia de seropositividad fué de 11.2% para los primeros y de 16.3% para los segundos ($p<0.05$) (Cuadro 1).

Para el caso de los guatemaltecos se observa que el tiempo de residencia en dicha área de estudio no ha influído en la mayor o menor exposición al agente infectante ya que por ejemplo la Colonia Cuauhtémoc es uno de los campamentos con frecuencia de - seropositividad mayor y con un tiempo de residencia más largo; - lo que contrasta con Santa Rosa que a pesar de ser otro de los - campamentos con mayor seropositividad fué el último en formarse (Cuadro 2). Asimismo la frecuencia de seropositividad entre - los guatemaltecos fué mayor en los campamentos de las zonas I y III que en los de la zona II ($p<0.0001$) (Cuadro 1).

En lo que se refiere a las comunidades de mexicanos se observa una aparente correlación, entre el tiempo de estancia de la comunidad y la frecuencia de seropositividad (Cuadro 2). En donde no hubo diferencias en la frecuencia entre las comunidades mexicanas ($p>0.05$) (Cuadro 1).

...

No se observaron diferencias en relación al sexo (Cuadro 3). La frecuencia de seropositividad en relación a la edad fué similar en ambos grupos excepto para los grupos de 15 a 24 y de 35 a 44 años, en los que hubo diferencias con $p<0.05$ y $p<0.01$, respectivamente (Figura 6) (Cuadro 4).

El 63% de los sueros de los guatemaltecos presentaron títulos mínimos de positividad de 1:20, en tanto que el 60% de los mexicanos mostraron títulos mayores de estas cifras ($p<0.02$) (Figura 7).

DISCUSION Y CONCLUSIONES.

La interpretación de nuestro resultado se ve limitada por dos hechos; el haber analizado solo, una muestra de suero por individuo y el haber detectado los anticuerpos únicamente con el serotipo 1 del virus, lo que nos impide determinar el serotipo causante de la infección, debido a la amplia reacción cruzada entre los serotipos utilizando la prueba de I.H. Los resultados nos permiten, sin embargo, conocer el número de individuos que han estado en contacto con el virus.

La frecuencia encontrada por nosotros tanto entre los mexica

nos (16.3%) como entre los guatemaltecos (11.2%), es menor que - el 20% reportado por Scherer y el 26.9% reportado por Figueroa - (16.35). Este hecho puede deberse a la baja densidad poblacional - de las comunidades que estudiamos ya que todas ellas tenían me- - nos de 3 000 habitantes. Eliason y col. (15) han reportado que la - densidad poblacional por km^2. es uno de los factores de riesgo más importantes para la transmisión de la enfermedad, calculándose un riesgo atribuible de 10 a 20% en comunidades con 5 a 10 mil habi - - tantes por km^2. y hasta un 62% de riesgo en aquellas con más de 13 mil. La mayor frecuencia de positividad observada a mayor edad - (Figura 6) puede relacionarse con un mayor riesgo de contacto con el virus: las diferencias encontradas en los grupos de 15 a 24 y de 35 a 44 años entre ambas poblaciones pudiera atribuirse a movimientos internos de los mexicanos que en búsqueda de fuentes de trabajo, realizan a diferentes estados de la República en donde el riesgo de infectarse es mayor.

La mayor frecuencia de seropositividad aunada a la detección de títulos más elevados de anticuerpos en los mexicanos, pudiera - indicarnos que éstos estuvieron en contacto con el virus más recientemente, lo que es explicable a la luz de datos epidemiológicos, - - pues se sabe que la epidemia de dengue ocurrió primero en Guate—

mala que en México. La curva de distribución de acuerdo a los títulos de los anticuerpos de los individuos corresponde a la descrita para zonas de baja endemicidad (Figura 7) (26).

Algunos investigadores han reportado que las personas del sexo femenino son más afectadas que las de sexo masculino debido a que permanecen mayor tiempo en el domicilio y están más expuestas a la picadura del vector; sin embargo, nuestros resultados muestran porcentajes de seropositividad similar para ambos sexos, muy probablemente debido a que la baja densidad poblacional y las condiciones de vida rural no permiten observar estas diferencias.

Otros índices de riesgo de transmisión de la enfermedad como el número de criaderos positivos a larvas, el número de casas infectadas, el índice de Breteau (número de recipientes con A. aegypti por cada 100 casas) y la densidad poblacional no pudieron ser medidos en nuestro estudio. Sin embargo, el tipo de comunidades estudiadas es rural y con baja densidad poblacional, hechos que explican los bajos porcentajes de positividad observados en nuestro estudio, Esto nos permite concluír que aquellas comunidades con características similares tienen bajo riesgo de tener casos

#= ...

graves de dengue en caso de presentarse un brote epidémico por - un serotipo diferente del uno.

Cuadro I.- FRECUENCIA DE SEROPOSITIVIDAD EN CAMPAMENTOS DE GUATEMALTECOS Y COMUNIDADES DE MEXICANOS EN - LA FRONTERA SUR DEL ESTADO DE CHIAPAS.

Zona Geográfica	Comunidades de Mexicanos		Campamentos de Guatemaltecos	
	Número de Muestras	Porcentaje de Positividad	Número de Muestras	Porcentaje de Positividad
I	230	16.0	311	15.7 **
II	22	9.0	249	1.6 **
III	221	16.3	319	14.1 **
Total	473	16.3 *	879	11.2 *

* $p < 0.05$

** $p < 0.0001$ entre la zona II con la I y III.

Cuadro 2.- POSITIVIDAD Y TIEMPO DE RESIDENCIA DE LOS CAMPAMENTOS Y COMUNIDADES ESTUDIADOS.

Guatemaltecos	Núm. de muestras estudiadas	Núm. de muestras positivas	%	Tiempo de residencia (meses)
Zona I				
1.- Chupadero	139	12	1.17	13.6
2.- Carmen Xhan	35	3	8.57	11.5
3.- Santa Rosa	37	9	24.32	8.2
4.- Cuauhtémoc	100	25	25.0	15.8
Zona II				
5.- Flor de Café	170	2	1.17	16.4
6.- Las Ventanas	79	2	2.53	15.0
Zona III				
7.- Benemérito	200	19	9.50	11.9
8.- Pico de Oro	119	26	21.89	14.6
Total	879	98	11.2 *	14.0
Mexicanos				(años)
Zona I				
1.- Delicias	230	39	16.9	19.35
Zona II				
2.- Flor de Café	22	2	9.0	6.27
Zona III				
3.- Pico de Oro	221	36	16.3	14.95
Total	473	77	16.3 *	17.2

(*) $p<0.05$ entre estos grupos.

Cuadro 3.- DISTRIBUCION DE ACUERDO AL SEXO EN LOS INDIVIDUOS ESTUDIADOS.

Sexo	Mexicanos		Guatemaltecos	
	Positivos	%	Positivos	%
Femenino	33	14.2	48	10.5
Masculino	39	17.5	50	11.9
Total	72	15.8	98	11.2

Cuadro 4.- DISTRIBUCION DE LOS INDIVIDUOS ESTUDIADOS SEGUN LA EDAD, DE LOS CAMPAMENTOS Y COMUNIDADES.

Edad	Guatemaltecos		Mexicanos *	
	Núm.	%	Núm.	%
< 5	140	16.0	48	10.4
5 - 14	354	40.6	193	42.4
15 - 24	108	12.4	66	14.5
25 - 34	94	10.8	58	12.7
35 - 44	101	11.6	39	8.5
45 - 54	42	4.8	28	6.1
> - 54	32	3.6	23	5.0
Total	871		455	

* 18 sin datos

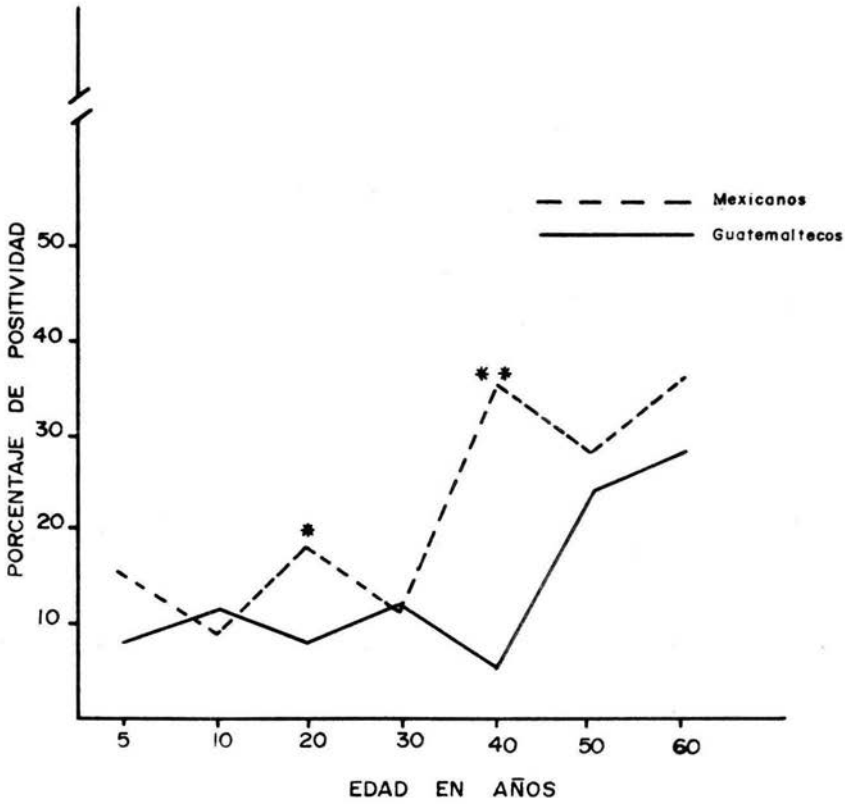


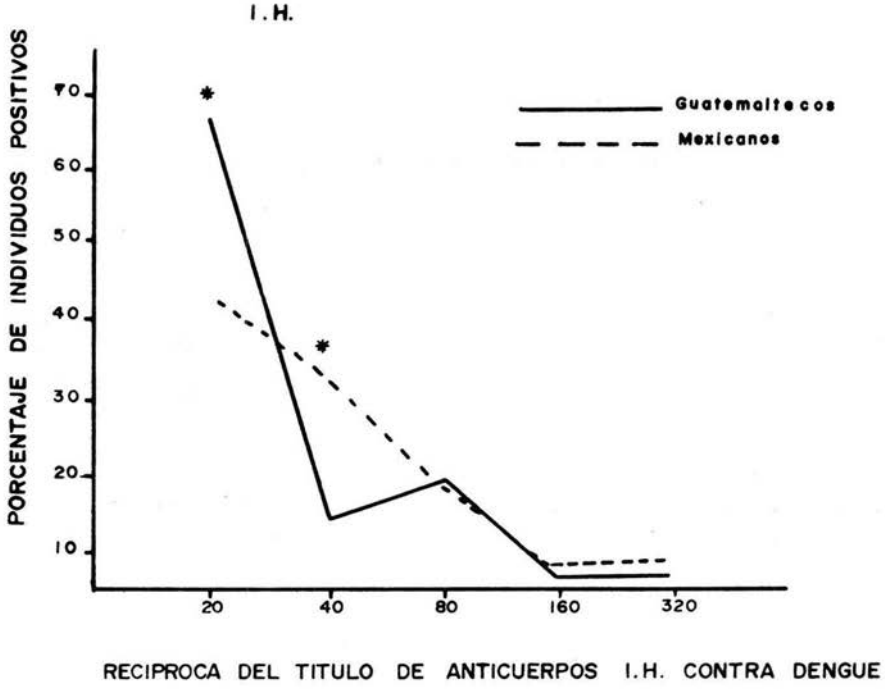
Fig. 6 Frecuencia de individuos con anticuerpos contra dengue

(≥ 1:20) segun la edad

* $p<0.05$

** $p<0.001$

Figura 7.- Distribución de anticuerpos contra dengue en ambas poblaciones de acuerdo al título.



* $p<0.02$

BIBLIOGRAFIA

1.- Ashburn, P.M.; Craig, C.F.: (1907) Experimental Investigations regarding the etiology of dengue fever, with a general consideration of the disease.Philippine J Sci: 2;93-152.

2.- Cantelar de Francisco, N. (1983) Fiebre Hemorrágica por dengue (FHD). Sudeste Asiático y Pacífico Occidental. Rev Cub Med Trop; 35(2);130-135.

3.- Cantelar de Francisco, N. (1983) Dengue en el Caribe y las Américas (artículo-revisión) (II parte). Rev Cub Med Trop; 35(2);136-153.

4.- Carrada Bravo, T.; Vázquez, V.L.; López García, I. (1984) Ecología del dengue y el Aedes aegypti. Investigación preliminar. Salud Pública México 26(1);63-76.

5.- Carrada Bravo, T.; Vázquez, V.L.; López García I. (1984) Ecología del dengue y el Aedes aegypti. Cuarta parte. Salud Pública México 26(5);501-516.

6.- Carrada Bravo, T.; Vázquez, V.L.; López García, I. (1984) Ecología del dengue y Aedes aegypti. Tercera parte. Salud Pública México 26(3);297-311.

...

7.- Castro, P.J.; Cabrera, C.L. (1981) Dengue, Infectología 1(2).

8.- C.D.C. Morbidity and Mortality Weehley Report 1981, 30;250.

9.- Center for Disease Control Public Health Service y Panamerican Health Organization. Dengue dianostic laboratory procedures for the Americas. A manual. 1981.

10.- Clarke, D.H.; Casals, J.; (1958) Techniques for hemagglutination inhibition with artropod-borne viruses. Am J Trop Med Hyg 7;561.

11.- Cleland, J.B. y col.: (1918) Dengue fever in Australia. Its history and clinical course its experimental transmission by Stegomyia fasciata and the result of inoculation and other experiment. J Hyg 16:317-418.

12.- Dengue- Un problema de salud pública en varias entidades federativas del país. Epidemiología. Boletín de la Dirección General de Epidemiología, S.S. A. 5(3).

13.- El dengue en las Américas, 1983. (1984) Boletín Epidemiológico. Organización Panamericana de la Salud. 5(5);1-3.

14.- Dubois-Dalcq, Monique; Holmes, K.V.; Campos, E.; Valdes-

pino, J.; Assembly of togaviridae. Assembly of Enveloped - RNA Viruses. Kingsburg, D.W. Ed. Springer-Verlag. Wien - New York 1984. 120-148.

15.- Eliason, D.A.; Zorrilla, E.; Magos, C. y col. (1983) Valoración de índices de riesgo de transmisión del dengue, Salud - Pública México 25(4);411.

16.- Figueroa, M.; Pereida, R.; Gutiérrez, H.; De Mejía C.; Padilla, N. (1982). La epidemia de dengue en Honduras, 1978-1980. Bol. of Sanit Panam 93(5);434.

17.- Fraser, H.S.; Wilson, W.A.: (1978) Dengue fever in Jamaica with shock and hipocomplementaemia, heamorrhagic visceral and neurological complication. West Indice Med J 27;106-116.

18.- Gómez Dantés, H.; Koopman, J.S.; Addy, C.L. y col.; (1984) Epidemías de dengue en la costa del Pacífico México 1984. - Epidemiología. Boletín Mensual. I(2).

19.- Graham, H. (1903) Dengue a study of its mode of propagation and pathology. Jour Trop Med 6; 209-221.

20.- Guzmán, G.M.; Kouri, G.; Morier, L.; Soler, M.; (1984) -

Casos mortales de dengue hemorrágico en Cuba 1981. Bol of - Sanit Panam 97(2).

21.- Halsted, S.B.; (1966) Mosquito borne haemorrhagic fever of - Sount and Southeast Asia. Bull WHo 35.

22.- Hammon, W. MacD.; Rudwick, A. y col. : (1960) Viruses - Associated with epidemic heamorrhagic fevers of the Philippines and Thainland. Sci 131;1102-1113.

23.- Jonkers, A.H.; (1968) Dengue fever in the Caribbean. West Ind Med 18;126.

24.- Koopman, J.S.: (1986) La problemática del dengue. Epidemiología. Boletín Mensual 1(2).

25.- Kumate, J. (1985): Dengue. En: Kumate, J. y Gutiérrez G. Eds. Manual de Infectología. Undécima edición. F.M. Cervantes, México; pág. 454.

26.- Lobel, H.O.; Kagan, I.G.; (1978) Seroepidemiology of Parasitic diseases. Ann Rev Microbial 32;329.

27.- Moreno, L.; Guiscafre, H.; Martínez, M.C.: Condiciones de -

Vida, enfermedades transmisibles y estado nutricional de los refugiados guatemaltecos y mexicanos en la frontera Sur de - México. Bol of Sanit Panam. (En prensa).

28.- Organización Mundial de la Salud. Guide of Diagnosis, treatment and Control of Dengue Haemorrhagic Fever for the South East Asian and Western Pacific. Regions Ginebra, 1980.

29.- Public Health Service C.D.C. San Juan Puerto Rico. Laboratory Dengue Survillance Sumary Num. 33 May 1986.

30.- Rusee, P.K.; (1966) Recovery of dengue Viruses from patiens during epidemics in Puerto Rico and East Pakistan. Am J Trop Med Hgy 15:573.

31.- Sabin, A.B. (1950) The dengue group of viruses and its family relationships. Bact Rev 14;225-232.

32.- Sabin, A.B. (1952) Research on dengue during World War II. - Am J Trop Med Hyg 1;30-50.

33.- Schlesinger, R.W. (1982) Dengue Virus (Virology Monographs 16) Ed. Springer-Verlag New York. pág. 14-105.

34.- Schlesinger, R.W. (1980) The togaviridae. Ed. Academic -

Press. New York.

35.- Scherer, W.F.; Dickerman, R.W.; Ordoñez, J.V. (1979) En--cuestas serológicas para determinar la presencia de anticuer-pos contra arbovirus de la encefalitis del este al oeste. Califor nia y San Luis y del dengue 3 en Mesoamérica 1961-1975. Bol of Sanit Panam 87(3);210)

36.- Siler, J.F.; Hall, M.W.; Dengue; Its history epidemiology - mechanism of transmission etiology clinical manifestations - inmunity and prevention. Philippine J Sci 29;1-304.

37.- Simmons, J.S. y col. (1930) Transmission of dengue fever by Aedes albopictus Skuse. Phillipine J Sci 41 215-231 y 44;1-251.

38.- Smith, G.W.; Wright, P. (1985) Syntesis of proteins and Glyco proteins in Dengue type 2 virus-infected Vero and Aedes albo-pictus cells. J Gen Virol 66;559-571.

39.- Velimirovic, B. (1980) Los olvidados, la salud de los migran-tes. Bol of Sanit Panam 89;49.

40.- Ventura, A.K.; Hewitt, C.M.; (1970) Recovery of dengue 2 y - dengue 3 viruses from man in Jamaica. Am J Trop Med Hyg - 19;712-715.

...

41.- Kerchner, J.H.; Vorndan, A.V.; Monath, Thomas P. y Trent, Dennis W. (1986) Genetic and Epidemiological studies of dengue type 2 viruses by hybridazation using synthetic deoxyoligonucleotides as probes. J Gen Virol 67;2645-2661.