



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN - MANAGUA

**RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD “LUIS FELIPE MONCADA”  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN MICROBIOLOGÍA**

**TEMA:**

**“DINÁMICA DE LOS SEROTIPOS DEL VIRUS DEL DENGUE (DENV) EN  
MOSQUITOS *Aedes Aegypti*, COLECTADOS PARA LA VIGILANCIA  
ENTOMOVIROLÓGICA MOLECULAR DE LOS SILAIS DE NICARAGUA  
DURANTE EL PERÍODO 2019-2020”**

**Autores:**

**Br. Herrera Cruz María José**

**Br. Manzanarez Muñoz Jacqueline Zulema**

**Br. Pérez Pérez Jackson Andrés**

**Tutor/asesor (a):**

**MSc. Betzabé Rodríguez**

**Máster en Epidemiología**

**Managua, Nicaragua Febrero del 2021**





UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN - MANAGUA

**RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO**  
**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD “LUIS FELIPE MONCADA”**  
**DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN MICROBIOLOGÍA**

**TEMA:**

**“DINÁMICA DE LOS SEROTIPOS DEL VIRUS DEL DENGUE (DENV) EN  
MOSQUITOS *Aedes Aegypti*, COLECTADOS PARA LA VIGILANCIA  
ENTOMOVIROLÓGICA MOLECULAR DE LOS SILAIS DE NICARAGUA  
DURANTE EL PERÍODO 2019-2020”**

**Autores:**

**Br. Herrera Cruz María José**  
**Br. Manzanarez Muñoz Jacqueline Zulema**  
**Br. Pérez Pérez Jackson Andrés**

**Tutor/asesor (a):**

**MSc. Betzabé Rodríguez**  
**Máster en Epidemiología**

**Managua, Nicaragua Febrero del 2021**

## **Dedicatoria**

**A Dios** dador de los cielos por ser el creador de nuestras vidas, por habernos permitido llegar hasta este punto con salud para lograr nuestros objetivos, además de su infinita bondad y amor.

**A nuestros padres** por el apoyo incondicional, por sus consejos, valores, por la motivación constante en formarnos como personas de bien y preparados para los retos que pone la vida.

**A MSc. Roberto Flores** que influyó con sus lecciones y experiencias, siendo nuestro guía durante la carrera.

**A nuestra tutora Betzabé Rodríguez** por sus valiosos conocimientos, tiempo y dedicación durante todo el proceso.

## **Agradecimientos**

Le agradezco a Dios por cada una de las bendiciones que he recibido, por darme las fuerzas necesarias y salud, además de toda su bondad e infinito amor para continuar mi recorrido, superando todos los obstáculos que se me presentaron a lo largo de este camino, hasta que puedo ver la luz al final del túnel.

Gracias a mis Padres por ser los principales promotores de mis sueños, gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, a mi madre por estar dispuesta a acompañarme cada larga y agotadora noche de estudio; a mi padre por desear y anhelar siempre lo mejor, por sus sabios consejos que me han guiado durante mi vida, así como a toda mi familia. Mi sincero agradecimiento a una persona especial mi Madrina Araceli Cabezas quien me brindó su apoyo incondicional.

A Lic. Anabelly Zamora por compartir sus conocimientos contribuyendo de gran manera al cumplimiento de todos los objetivos que permitieron mi desarrollo a lo largo de mi carrera. Agradezco al MSc. Roberto Flores por contar con su ayuda cuando más lo necesite, y por sus valiosas enseñanzas y experiencias en la formación profesional.

A mi tutora MSc. Betzabé Rodríguez quien estuvo a nuestro lado al realizar este trabajo y su capacidad para guiar nuestras ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta monografía, sino también en mi formación como investigador, el haberme facilitado los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el proceso, gracias por su valioso tiempo y dedicación.

“Gracias a la vida por este nuevo logro, a todas las personas que me apoyaron y creyeron en mí”.

**María José Herrera Cruz**

**Agradecimientos**

Primeramente, a Dios por haberme guiado y acompañado en este camino y nunca dejarme sola.

A las Personas más importantes que siempre estuvieron apoyándome con todo su esfuerzo, amor y apoyo incondicional, mi madre Jacqueline Muñoz, abuela Martha Téllez, padre Edgard Manzanares, tía Tania Selva y hermanas Gabriela y Abril que han sido el pilar de mi formación tanto personal como profesional.

Familiares y demás personas que estuvieron conmigo en los buenos y malos momentos brindándome su apoyo.

A María José Herrera y Jeckson Pérez mis compañeros, les agradezco de corazón que hayamos compartido este camino lleno de enseñanzas juntos.

Al laboratorio de Biología Molecular de Entomología Médica del CNDR y a su responsable y nuestra tutora MSc. Betzabé Rodríguez por su apoyo e interés con nuestra investigación y por haber compartido sus conocimientos y enseñanzas.

**Jacqueline Zulema Manzanarez Muñoz**

**Agradecimientos**

A DIOS:

Creador del universo y dueño de nuestras vidas, por darme fortaleza, sabiduría y entendimiento en todo el trayecto de mi formación como profesional y desarrollo del trabajo.

A mis padres:

José Andrés Pérez García y Francisca Idalia Pérez Acuña por el apoyo incondicional que me proporcionaron en todo el transcurso de mi carrera, que sin ellos no hubiese sido posible este logro.

MSc. Betzabé Rodríguez

Por su apoyo, asesoría, dirección, colaboración y su tiempo para alcanzar nuestros objetivos propuestos para la realización de nuestro trabajo.

A todas aquellas personas:

Que de una u otra forma colaboraron en la realización de nuestro trabajo

**Jeckson Andrés Pérez Pérez**

## Abreviaturas

<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ADNoteca</b>	Banco de muestras de ADN
<b>ARN</b>	Ácido Ribonucleico
<b>cDNA</b>	ADN Complementario
<b>CDC</b>	Centro para el Control y Prevención de Enfermedades
<b>CNDR</b>	Centro Nacional de Diagnóstico y Referencias
<b>DEN-V</b>	Virus del Dengue
<b>IgG</b>	Inmunoglobulina G
<b>IgM</b>	Inmunoglobulina M
<b>MEM</b>	Medio Esencial Mínimo Complementado
<b>MINSA</b>	Ministerio de Salud
<b>MIR</b>	Tasa mínima de infección
<b>PCR</b>	Reacción en la Cadena de Polimerasa
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OPS</b>	Organización Panamericana de la Salud
<b>RT-PCR</b>	Reacción en la Cadena de Polimerasa en Tiempo Real
<b>SILAIS</b>	Sistema Local de Atención Integral En Salud

## Resumen

El presente trabajo investigativo, pretende conocer la dinámica de los serotipos del virus del Dengue (DENV) en mosquitos *Aedes aegypti*, colectados para la vigilancia entomoviroológica molecular de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019-2020. En el que se realizó un tipo de estudio descriptivo, retrospectivo de corte transversal, el universo estuvo comprendido por 7,005 ARN de mosquitos *Aedes aegypti* procesados de los 19 SILAIS de Nicaragua y consistió en muestreo no probabilístico por conveniencia. Se seleccionó de la ADNoteca el RNA total extraído de los mosquitos positivos y a partir de ello se realizó la tipificación mediante una PCR múltiplex utilizando el Kit de amplificación experimental del CDC diseñado para detectar serotipos DENV en mosquitos.

Los resultados obtenidos de la tipificación del virus del Dengue en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* mediante la técnica de RT-PCR tiempo real en el año 2019-2020 fue el siguiente: el 100% de las muestras analizadas resultaron ser serotipo DENV-2, en el año 2019 y 2020 respectivamente, la frecuencia de los serotipos del DENV circulantes en mosquitos *Aedes aegypti*, observó una distribución en los distintos SILAIS del país entre ellos Nueva Segovia, Madriz, las Minas, Zelaya central y los distritos IV, VI y VII de Managua donde únicamente se observa la circulación del serotipo DENV-2.

Al comparar los serotipos detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* con los datos epidemiológicos reportados en pacientes durante los dos años se observó similitud donde solo circula el serotipo DENV-2 con mayor frecuencia en el año 2020 en comparación del 2019, en nuestro estudio se concluyó que es de suma importancia mantener la vigilancia activa en la búsqueda de los serotipos del virus del dengue por la introducción de un nuevo serotipo al país y se recomienda tomar todas las medidas necesarias orientadas por las autoridades del MINSA.

## ÍNDICE

1. Introducción .....	1
2. Antecedentes .....	3
3. Justificación .....	5
4. Planteamiento del problema.....	6
5- Objetivos .....	7
6. Marco Teórico.....	8
6.1 Generalidades .....	8
6.2 Vector .....	8
6.2.1 Ciclo de vida del mosquito Aedes aegypti .....	9
6.3 Agente etiológico.....	9
6.3.1 Serotipos.....	10
6.4 Infección por el virus del Dengue.....	11
6.4.1 Clasificación clínica del dengue.....	12
6.4.2 Fases Clínicas del Dengue.....	12
6.4.3 Fisiopatología .....	13
6.4.4 Transmisión.....	15
6.5 Determinantes de la transmisión del dengue .....	16
6.5.1 Factores de riesgos ambientales y sociales .....	16
6.5.2 Efecto de la temperatura y precipitación.....	16
6.5.3 Demográficos .....	17
6.5.4 Sociales.....	18
6.5.5 Estado socioeconómico .....	18
6.6 Diagnóstico.....	19
6.6.1 Aislamiento viral .....	19

6.6.2	Detección molecular.....	19
6.6.3	Inmunológicas.....	19
6.7	Sistemas de vigilancia.....	21
6.7.1	Vigilancia entomológica.....	21
6.7.2	Vigilancia entomoviológica molecular.....	21
6.8	Control y Prevención.....	23
7.	Diseño metodológico.....	23
7.1	Tipo de estudio.....	23
7.2	Área de estudio.....	24
7.3	Universo.....	24
7.4	Muestra.....	24
7.5	Operacionalización de las variables.....	25
7.6	Métodos, técnicas e instrumentos para la recolección de información.....	26
7.7	Aspectos éticos.....	27
7.8	Limitaciones del estudio.....	27
7.9	Plan de tabulación y análisis.....	28
8.	Análisis y discusión de los resultados.....	29
9.	Conclusiones.....	39
10.	Recomendaciones.....	40
12.	Bibliografía.....	41
	ANEXOS.....	45

## 1. Introducción

El Dengue es un problema de salud pública en la región de las Américas; es una enfermedad infecciosa aguda de etiología viral, transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*, especie que se ha adaptado a la convivencia con humanos, a menudo proliferándose en acumulaciones de agua en basureros, patios, jardines o en contenedores desechados por humanos. Es la enfermedad más común transmitida por artrópodos (arbovirosis), y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) existen entre 30 y 60 millones de infecciones por año en el mundo, con aproximadamente dos mil millones de personas en riesgo y a pesar de los esfuerzos realizados por parte de los Estados miembros con el fin de contener y mitigar el impacto de las epidemias (Martínez, 2019).

Los cuatro serotipos del virus del dengue (DENV 1, DENV 2, DENV 3 y DENV 4) están presentes en las Américas, en el 2019 se ha detectado la circulación simultánea de todos ellos en Brasil, Guatemala y México; mientras que, en Colombia, Panamá, Martinica y Venezuela, circulan los serotipos DENV 1, DENV 2 y DENV 3 y en Paraguay y Perú, DENV 1, DENV 2 y DENV 4. Cuatro de los cinco países de las Américas con las tasas de incidencia más altas pertenecen al istmo centroamericano, siendo estos Belice, El Salvador, Honduras y Nicaragua en los que ha venido circulando principalmente el serotipo DENV 2 y recientemente se ha reportado en Honduras y Costa Rica el serotipo DENV 1. Brasil es el quinto país que se suma a esta lista, con una incidencia de 711,2 casos por 100.000 habitantes (OPS, 2019).

La detección y tipificación del virus del Dengue en poblaciones de mosquitos en regiones donde la enfermedad es hiperendémica, sirve como un sistema de alerta temprana que ayuda a monitorear las tasas de infección de los diferentes serotipos dentro de las poblaciones vectoriales, para predecir epidemias tanto de Dengue con o sin signos de alarma y Dengue grave a causa de la circulación concomitante de diferentes serotipos ya que cuando una persona se recupera de la infección adquiere inmunidad contra el serotipo en particular, sin embargo, las infecciones posteriores causadas por un serotipo heterólogo aumentan el riesgo de padecer dengue grave. Este tipo de análisis permite posicionar al vector como el elemento primario y necesario en el ciclo de transmisión durante las evaluaciones epidemiológicas (Sánchez, 2013).

En Nicaragua el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) inició en el 2018 la Vigilancia entomoviroológica para la detección del Dengue, Chikungunya y Zika en el mosquito hembra del *Aedes Aegypti*, después de la evaluación realizada por OPS y el INDRE (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica) de México, con el fin de anticipar brotes y detectar el ingreso de nuevos serotipos antes de que inicie la transmisión de la enfermedad en las personas, dando pie a la cadena de investigaciones de este tipo; por lo que se hace necesario la realización del estudio el cual pretende analizar la Dinámica de los serotipos del virus del Dengue en mosquitos *Aedes aegypti*, de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019-2020.

## 2. Antecedentes

En Nicaragua han circulado los cuatro serotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4); desde 1985 se declaró el primer brote de Dengue con 17,483 casos sospechosos de Dengue clásico y 7 muertes por Dengue Hemorrágico atribuidos al serotipo 1 y 2; en 1990 se introdujo el serotipo 4 que resultó en más de 4,000 casos y el segundo brote ocurrió en 1994 y 1995 con 24,669 y 19,260 casos de Dengue respectivamente, identificándose los serotipos 3 y 4, esto demuestra la tendencia que ha tenido la enfermedad a través los años (González, 2008).

En una investigación realizada en Brasil por Alves da Costa y colaboradores en el año 2009 tuvo como objetivo detectar y describir el virus del dengue en el vector *Aedes aegypti*, donde se recolectaron 8,984 mosquitos en 46 distritos de la ciudad de Manaus, las hembras de *Aedes aegypti* se agruparon en grupos de 1 a 10 mosquitos, totalizando 138 grupos procesados a través de PCR, de los cuales 111 grupos fueron positivos para DENV 3 y un único grupo fue positivo para dos serotipos (DENV 1 y DENV 3). La prevalencia de *Aedes aegypti* infectado con DENV 3 en la ciudad de Manaus fue del 53% (Alves da Costa, Carvalho dos Santos, & Barbosa, 2009).

En otro estudio realizado en México por Sánchez en el año 2013 sobre la identificación y serotipificación del virus dengue, densidades y tasa de infección de poblaciones domésticas de *Ae. aegypti* en Cancún, México; explica que la colecta total de mosquitos *Ae. aegypti* resultó en 965 mosquitos, de los cuales se obtuvieron 419 hembras, mismas que se homogenizaron en pools de 10 mosquitos para RT-PCR y se utilizaron como controles virus dengue detectando únicamente la presencia de DENV-2. En cuanto a la densidad de mosquitos se encontró que en 15 casas estaba presente el 60% de los mosquitos procesados en este estudio, además que en una sola vivienda se localizaron 21 hembras, encontrándose en esta casa el 50% de los mosquitos infectados. La tasa de infección total de hembras *Ae. aegypti* resultó 1.4% (Sánchez, 2013).

En una investigación realizada en Ecuador por Coba en el año 2015 acerca de la Prevalencia y serotipificación del virus del dengue mediante RT-PCR en *Aedes aegypti* capturados en la cooperativa de vivienda provincias unidas en Santo Domingo, Ecuador explica que se examinó un total de 49 mosquitos en los meses de Enero-Abril donde 12 de ellos fueron positivos, siendo el serotipo DENV-2 el que está presente en la mayor cantidad de individuos analizados 20.41% (10)

y en menor cantidad DENV-1 con 2.04% (1) y DENV-3 con 2.04% (1), como resultado tres serotipos del virus circulando en la población de vectores (Coba, 2015).

En una investigación realizada por Enrique Henao en Medellín, Colombia acerca de la Vigilancia virológica de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* como apoyo para la adopción de decisiones en el control del dengue en Medellín de los ejemplares de mosquitos se identificaron y se conformaron grupos para la detección viral mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR). Se calculó la tasa mínima de infección y el índice de infestación en adultos. Se recolectaron un total de 1.507 mosquitos, 10 de los cuales eran *Ae. albopictus*. De los 407 grupos conformados, 132 fueron positivos para DENV. La tasa mínima de infección para *Ae. aegypti* fue de 120,07 y 69,50 en el primer y segundo períodos, respectivamente (Henao, 2017).

En estudio realizado en Venezuela por Karen Flores y colaboradores en el año 2020 sobre la cocirculación viral de Dengue en mosquitos *Aedes aegypti* infectados naturalmente, se evaluaron dos municipios del estado de Aragua, donde se capturaron 163 mosquitos para el municipio Francisco Linares Alcántara (FLA) y 105 mosquitos para Mario Briseño Iragorry (MBI), estos se agruparon de 2 a 9 mosquitos para la extracción de ARN y el análisis mediante el RT-PCR específica para cada virus, se calcularon la tasa mínima de infección obteniendo en MBL 0% y en FLA 1,90%, los resultados evidenciaron co-infección de mosquitos por DENV-3 en el municipio de Francisco Linares Alcántara (Flores et al., 2020).

En Nicaragua hasta la fecha no hay publicaciones oficiales de investigaciones sobre los serotipos del virus del dengue en el vector, ya que no se han realizado estudios sino hasta el 2018. Año que no cuenta con información al respecto.

### 3. Justificación

El dengue figura en la lista de enfermedades re-emergentes que afectan América Latina, Sudeste Asiático, Medio Oriente, África y Pacífico Occidental en el que se estiman de 50 a 100 millones de infectados por el virus anualmente en las regiones tropicales y subtropicales, donde más de 2.5 billones de personas están en riesgo, lo que corresponde a un tercio de la población mundial con una tasa promedio de letalidad del 0,05% (OMS, 2020). Es por ello considerada en la actualidad la enfermedad viral transmitida por artrópodos de mayor importancia en términos de morbilidad y mortalidad, constituyéndose así en un evento cuya vigilancia, prevención y control revisten especial interés en la salud pública.

La frecuencia de casos hemorrágicos durante una epidemia de dengue depende de la cepa del virus, por lo tanto, el monitoreo de la distribución temporal de serotipos en el vector en áreas endémicas provee información anticipada del factor de riesgo de transmisión del dengue e introducción de un nuevo serotipo circulante en el país. Siendo el serotipo DEN-2 el que con mayor frecuencia produce casos severos seguidos por el DEN-3, DEN-1 y DEN-4, que a su vez presentan diferencias en el potencial virulento entre cepas. Los esfuerzos para interrumpir la transmisión se ven concentrados en el control vectorial; por lo que resulta importante mantener una vigilancia de los serotipos de dengue en mosquitos, siendo la principal clave para adoptar medidas eficaces.

En el año 2018 en Nicaragua se notificaron un total de 6,232 (1.5%) casos sospechosos de dengue de los cuales 2,103 fueron confirmados por laboratorio; durante el año 2019 se observó un total de 32,598 (6.7%) casos sospechosos, siendo confirmados 10,596. Hasta la semana epidemiológica 22 del corriente año 2020 se han notificado 25.882 sospechosos de dengue, en el cual 694 (2.7%) fueron casos confirmados (MINSa, 2020). Es por ello el propósito de realizar un estudio sobre la Dinámica de serotipos del DENV en mosquitos *Aedes aegypti* colectados de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019 al 2020, el cual pretende recopilar datos y sentar bases para generar estrategias de prevención del Dengue, basados en la necesidad de mantener una vigilancia que favorezca la detección precoz de casos, y permita la aplicación de las medidas de control en acciones preventivas de forma anticipada e interrupción de los focos de transmisión reduciendo así el riesgo y propagación de brotes con el fin de promover futuras investigaciones.

#### 4. Planteamiento del problema

Los cuatro serotipos descritos del virus del dengue producen por lo general una enfermedad febril auto limitada. Sin embargo, tiene un espectro clínico muy amplio que va desde formas asintomáticas hasta su forma más grave. La transmisión del dengue en las Américas presenta un comportamiento endemo-epidémico en la mayor parte de los países. Durante los últimos 20 años se han registrado ciclos epidémicos cada 3 a 5 años, con un aumento en el número y frecuencia de brotes de dengue y la mortalidad por esta causa (Henaó, 2017).

La vigilancia epidemiológica del dengue se basa principalmente en las notificaciones de los casos reportados, y en los levantamientos de índices entomológicos. Sin embargo, algunas veces los casos se reportan tardíamente en el sistema, por lo cual las decisiones para el control de la enfermedad resultan inoportunas. El empleo de técnicas moleculares para la detección del virus del dengue en mosquitos recolectados en campo se convierte en una estrategia que permite disponer de información de mayor precisión. Dado esto y que la dinámica de transmisión del dengue está estrechamente asociado con la expansión geográfica del virus y de su principal agente transmisor, el mosquito *Aedes aegypti*. Siendo los serotipos virales participantes y las infecciones previas, factores que pueden relacionarse con la aparición de brotes epidémicos y la gravedad de los mismos en la región se plantea lo siguiente:

¿Cómo es la dinámica de los serotipos del virus del Dengue en mosquitos *Aedes aegypti*, colectados para la vigilancia entomoviroológica molecular de los SILAIS de Nicaragua, durante el período 2019-2020?

Preguntas directrices

- 1- ¿Cómo se realiza la detección de los serotipos del virus del Dengue en el mosquito *Aedes aegypti* de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019-2020?
- 2- ¿Cuál es la frecuencia de los serotipos del DENV y la tasa mínima de infección en los mosquitos *Aedes aegypti* de los SILAIS durante el período de estudio?
- 3- ¿Existe relación de los serotipos detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* con datos epidemiológicos de pacientes reportados por los SILAIS de estudio?

## 5- Objetivos

### 5.1 Objetivo general:

Analizar la dinámica de los serotipos del virus del Dengue (DENV) en mosquitos *Aedes aegypti*, colectados para la vigilancia entomoviroológica molecular de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019-2020

### 5.2 Objetivos específicos:

- 1- Detectar los serotipos del virus del Dengue en mosquitos *Aedes aegypti* mediante RT-PCR de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019-2020.
- 2- Determinar la frecuencia de los serotipos del DENV y la tasa mínima de infección en mosquitos *Aedes aegypti* de los SILAIS durante el período de estudio.
- 3- Comparar los serotipos detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* con datos epidemiológicos de pacientes reportados por los SILAIS en estudio.

## 6. Marco Teórico

### 6.1 Generalidades

En Nicaragua la primera epidemia documentada de dengue se presentó en el año 1985, persistiendo hasta la época actual con un comportamiento endémico y apareamiento de brotes en diferentes departamentos del país. La respuesta a los comportamientos endo-epidémicos han sido las acciones de control de brotes y movilización de recursos humanos y financieros, con alto costo económicos para el país, sin lograr el control de la enfermedad y la sostenibilidad.

La mayor morbilidad y las más elevadas tasas de ataque se registraron entre agosto y noviembre, siendo afectadas fundamentalmente las regiones II (León y Chinandega), III (Managua) y IV (Masaya, Granada, Carazo, Rivas) que acumularon el 89% de los reportes. Estas regiones se corresponden precisamente con las zonas más densamente pobladas ubicadas en la costa del Pacífico, donde se encuentran los núcleos urbanos más importantes y populosos del país (Martinez, 2013).

### 6.2 Vector

El *Aedes aegypti* es el vector que representa mayor riesgo para la transmisión de arbovirus en las Américas, este mosquito es capaz de causar enfermedades que pueden ocasionar la muerte si no se trata a tiempo, entre ellas el Dengue, Chikungunya, Zika, Fiebre amarilla, Mayaro y Fiebre Nilo Occidental como consecuencia del cambio climático, el desplazamiento urbano, entre otros factores (Real, 2010).

Las hembras del *Aedes aegypti* son las responsables de la transmisión, ya que necesitan sangre humana principalmente para llevar a cabo el desarrollo de los huevos. Los machos no se alimentan a través de una fuente sanguínea. Las hembras de *Aedes aegypti* se alimentan cada tres a cuatro días. Sin embargo, si no han succionado suficiente sangre, estarán alimentándose en cada momento que puedan. La hora de mayor actividad del mosquito es temprano por la mañana y al atardecer, por lo tanto, es el período de mayor riesgo para las picaduras. Sin embargo, si la hembra necesita alimentarse más, buscará una fuente sanguínea fuera de ese período.

El rango de vuelo del mosquito *Aedes aegypti* es corto, no vuela más allá de 25 metros (no necesita volar más ya que el alimento está disponible en las viviendas y cerca de sus criaderos). El mosquito pone sus huevos cada 3 o 4 días en distintos recipientes, después de alimentarse, lo cual garantizará la supervivencia de la cría ante los depredadores. Esto indica la importancia de la eliminación

adecuada de recipientes no útiles en la casa y sus alrededores, así como el cuidado de los recipientes útiles que almacenan agua. Los huevos del *Aedes aegypti* pueden resistir condiciones de sequía por más de un año y mantenerse viables, de hecho, es una de las formas más importantes de mantener la especie y de su dispersión (OPS, 2016).

### **6.2.1 Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti***

*Aedes aegypti* es un mosquito de vida doméstica (vive dentro y en los alrededores de las casas) y se reproduce en cualquier recipiente artificial o natural con agua. El mosquito tarda entre 7 y 10 días para completar el ciclo de vida, y el tiempo de vida del mosquito adulto es en general alrededor de 4 a 6 semanas.

Después de cada ingesta de sangre, la hembra del *Aedes aegypti* pone de 200 a 500 huevos por vez y los deposita por encima del nivel del agua, en lugares con agua estancada de manera que los tazones, las tazas, los neumáticos, los barriles, los floreros y demás recipientes que contengan agua son una fabulosa “incubadora”. El desarrollo embrionario se completa en 48 horas pasando al estado larvario el cual crece rápidamente y se alimenta de organismos unicelulares ubicados en las paredes y fondo de los recipientes y en tan solo 5 días se convierte en pupa en esta fase no se alimenta y su función es continuar desarrollándose, hasta convertirse en un mosquito adulto en un lapso de 2 a 3 días (CDC, 2019).

El Adulto es la fase reproductora del *Aedes aegypti*. Las hembras se distinguen de los anofelinos por tener palpos más cortos y por adoptar una posición horizontal durante el reposo (OMS, 2019).

### **6.3 Agente etiológico**

El virus del dengue (DENV) es un virus de ARN monocatenario de polaridad positiva perteneciente al género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae*, lo constituyen cuatro serotipos virales serológicamente diferenciables (DENV 1, 2, 3 y 4) que comparten analogías estructurales y patogénicas, por lo que cualquiera puede producir las formas graves de la enfermedad. Son virus constituidos por partículas esféricas de 40 a 50 nm de diámetro que constan de 3 proteínas estructurales, envoltura (E), membrana (M) y cápside (C) y 7 proteínas no estructurales (NS): NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5-3 (Martínez, 2008).

El riesgo de dengue hemorrágico es mayor en el caso del serotipo DEN-2, seguido de DEN-3, DEN-4 y DEN-1. Los individuos infectados con un serotipo mantienen una memoria inmunológica

prolongada que evita que sean infectados por el mismo serotipo y hay un corto período de protección cruzada contra los serotipos heterólogos, que oscila entre 2 – 3 meses, después del cual son completamente susceptibles a la infección con los otros 3 serotipos. Desde luego, la manifestación de la enfermedad dependerá también de otros factores, tales como el serotipo que ha infectado al paciente y la respuesta inmune (López, 2017).

### **6.3.1 Serotipos**

La clasificación de los cuatro serotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4) del DENV tradicionalmente ha estado basada en sus propiedades antigénicas y recientemente en la similitud de su secuencia nucleotídica. Los cambios en los nucleótidos y aminoácidos que cada uno de los cuatro virus del dengue exhibe, representa un alto grado de variabilidad genética debido a la falta de actividad a prueba de errores de la RNA polimerasa, que contribuye a la diferenciación en el crecimiento, transmisión y virulencia del virus del dengue.

A partir de los reportes de las secuencias nucleotídica de los serotipos de DENV se ha demostrado la existencia de genotipos alrededor del mundo correspondiendo así: cinco genotipos diferentes para DENV-1, cinco genotipos para DENV-2, cuatro genotipos para DENV-3 y cuatro genotipos para DENV-4; capaces de producir infección asintomática, enfermedad febril y cuadros graves que pueden conducir hasta la muerte. La infección induce inmunidad protectora por toda la vida al serotipo homólogo, pero solo protección temporal contra los serotipos heterólogos, dada la variación genética de cada uno de los serotipos (OPS & OMS, 2013) (Ver anexos, Figura 6).

El **DENV-1** agrupa 5 genotipos y de estos solo se ha detectado el genotipo V en las Américas, diversos autores han encontrado 5 genotipos con un 6% de divergencia. Se les describe según la procedencia donde encontraron y los genotipos descritos serían: (I) Hawai, sudeste Asiático, China y este de África; (II) Tailandia; (III) Malasia; (IV) Indonesia, Pacífico Oeste y Australia; y (V) América, Oeste de África y Asia. Este último, detectado en las Américas desde que ocurriera la introducción de DENV-1 en 1977.

El **DENV-2** también cuenta con 5 genotipos (americano, asiático I, asiático II, asiático-americano y cosmopolita). El serotipo 2 del complejo de DENV es uno de los más estudiados, hecho que probablemente se deba a su elevada diseminación, así como a su potencial de causar epidemias asociadas en muchas oportunidades a la presencia de casos graves de la enfermedad. Desde el punto

de vista molecular, uno de los reportes que dio inicio a investigaciones relacionadas con la epidemiología molecular de DENV-2 fue el realizado por Rico-Hesse (1990) quienes secuenciaron el fragmento de E/NS1 del mencionado serotipo a partir de virus aislados de diferentes hospedadores y zonas geográficas, lo que permitió sentar bases de estudios posteriores gracias a la región genómica escogida para la secuenciación nucleotídica y a la definición de cinco grupos filogenéticamente distintos. El árbol filogenético permitió evidenciar como virus caribeños y suramericanos aislados antes de 1990, así como virus mexicanos aislados en 1992 correspondían a un mismo grupo filogenético (Camacho & Ferrer, 2012).

El **DENV-3**, agrupa 5 genotipos, (I, II, III, IV, V) Y ha sido identificado como el más virulento. Fue detectado por primera vez en las Américas en 1963 y aislado en 1977. Este serotipo se consideró ausente hasta el año 1994 cuando se aisló en Nicaragua y Panamá. Posteriormente circuló en países de América Central y el Caribe causando brotes de fiebre por dengue (FD) con algunos casos severos.

El **DENV-4** cuenta con 4 genotipos (I, II, III, IV), Desde que este serotipo se introdujo en el hemisferio occidental en 1981, ha estado circulando de forma continua en el Caribe y al norte de Suramérica, con escasas evidencias de diseminación y asociación a casos de fiebre hemorrágica por dengue (FHD/SCD). Solo el genotipo II se ha detectado en las Américas.

Los cuatro serotipos del DENV se mantienen en dos ciclos de transmisión ecológicos y evolutivamente distintos. El ciclo selvático y el ciclo urbano. El ciclo selvático involucra a primates no humanos y mosquitos arbóreos del género *Aedes*. Este foco de transmisión ha sido documentado en el este de África y la península de Malasia. El ciclo urbano involucra a mosquitos del género *Aedes aegypti*; y mosquitos del género *Aedes albopictus*. El mosquito *A. albopictus* sirve como vector primario del dengue en países en donde *A. aegypti* está ausente. En cambio en áreas rurales *A. aegypti* permanece como vector principal del dengue en donde ambas especies coexisten. En el ciclo urbano los humanos son los únicos hospederos definitivos conocidos donde el virus puede replicarse (Laredo & Bocanegra, 2012).

#### **6.4 Infección por el virus del Dengue**

Los cambios en la epidemiología del Dengue conducen a problemas con el uso de la actual clasificación de la OMS. Las infecciones sintomáticas por el virus del Dengue se agruparon inicialmente en tres categorías: fiebre indiferenciada, fiebre por Dengue y fiebre hemorrágica por

Dengue. Además, esta última se clasificó en cuatro grados, según su gravedad, en donde los grados III y IV corresponden al síndrome de choque por Dengue. Las dificultades en la aplicación de los criterios clínicos para la fiebre hemorrágica por Dengue, junto con el aumento en los casos de Dengue clínicamente graves que no cumplen con los estrictos criterios para ese diagnóstico, llevaron a solicitar que se reconsiderara la clasificación quedando de la siguiente manera.

#### **6.4.1 Clasificación clínica del dengue**

Según la clasificación recomendada por la OMS en el 2009 la cual surgió a partir de los resultados DENCO, que incluyó casi 2.000 casos confirmados de dengue de ocho países y dos continentes, establece dos formas de la enfermedad: dengue y dengue grave. El llamado dengue con signos de alarma es parte de la forma dengue, pero se le describe aparte por ser de extrema importancia su conocimiento para decidir conductas terapéuticas y hacer prevención en lo posible del dengue grave (OPS, 2019).

**Dengue sin signos de alarma:** La enfermedad puede manifestarse como un síndrome febril inespecífico; la presencia de otros casos confirmados en el medio al cual pertenece el paciente es un factor determinante para sospechar el diagnóstico clínico de dengue. En adultos el cuadro clínico puede ser muy típico con enrojecimiento, fiebre, eritema, dolor corporal generalizado, mialgia, artralgias, cefalea y dolor retro ocular. En niños puede haber pocos síntomas.

**Dengue con signos de alarma:** El paciente puede presentar dolor abdominal intenso y continuo, vómito persistente, acumulación de líquido, sangrado de mucosas, alteración del estado de conciencia, hepatomegalias y aumento progresivo del hematocrito. Los signos de alarma son el resultado de un incremento de la permeabilidad capilar y marcan el inicio de fase crítica.

**Dengue grave:** las formas graves de dengue se definen por uno o más criterios como el choque por extravasación del plasma, acumulación de líquido o con dificultad respiratoria; en la etapa inicial del shock se produce taquicardia y vasoconstricción periférica con reducción de la perfusión cutánea lo que conlleva a extremidades frías y retraso del tiempo de llenado de capilar (OPS & OMS, 2013).

#### **6.4.2 Fases Clínicas del Dengue**

El curso de la enfermedad del dengue pasa por tres etapas clínicas: la etapa febril, la única para la inmensa mayoría de los enfermos, la etapa crítica y la etapa de recuperación.

La etapa febril es variable en su duración y se asocia a la presencia del virus en sangre (viremia). Como en otras enfermedades, la evolución hacia la curación pasa por la caída de la fiebre y durante la misma el enfermo va a tener sudoración, falta de fuerzas o algún decaimiento, todo de tipo transitorio, pero habitualmente el propio paciente se percata que evoluciona hacia la mejoría. Otras veces, la caída de la fiebre se asocia al momento en que el paciente agrava, y la defervescencia anuncia, por tanto, el inicio de la etapa crítica de la enfermedad.

La etapa crítica coincide con la extravasación de plasma y su expresión más temida es el choque, con frialdad de los tegumentos, pulso fino, taquicardia e hipotensión. A veces, con grandes hemorragias digestivas asociadas, así como afectación de hígado y quizás de otros órganos. El hematócrito se eleva en esta etapa y las plaquetas que ya venían descendiendo alcanzan sus valores más bajos. En la etapa de recuperación generalmente se hace evidente la mejoría del paciente, pero en ocasiones existe un estado de sobrecarga líquida, así como alguna infección bacteriana sobreañadida.

Las manifestaciones referidas predominan al menos durante las primeras 48 horas de enfermedad y pueden extenderse durante algunos días más en la que pudiéramos considerar como la etapa febril de la enfermedad, durante la cual no es posible conocer si el paciente va a permanecer con síntomas y signos de dengue clásico todo el tiempo y va a evolucionar a la curación espontánea o si es apenas el comienzo de un dengue grave, con choque y grandes sangrados (Martínez, 2008).

### **6.4.3 Fisiopatología**

La infección por virus del dengue ocurre por la picadura de un mosquito a través de la epidermis y la dermis, se infectan las células inmaduras de Langerhans (células dendríticas epidermales) y los queratinocitos. Las células infectadas migran del sitio de la infección hacia los nódulos linfáticos, se reclutan los macrófagos y los monocitos, las cuales se convierten en células blancas de la infección, y el virus se disemina a través del sistema linfático. Como resultado de esta primera viremia se obtiene una población de células de linaje mononuclear como monocitos, células dendríticas (CD) mieloides y macrófagos de hígado y bazo infectado (Durán, 2010).

La respuesta inmunológica del huésped puede ser protectora (y conducir a la curación) o patogénica expresada por una “desregulación” que se caracteriza por una producción excesiva de citoquinas, así como cambio de la respuesta tipo TH1 a TH2 e inversión del índice CD4 / CD8. El derrame

excesivo de citoquinas produce un aumento de la permeabilidad vascular que se traduce en una extravasación de plasma, que es la alteración fisiopatológica fundamental del dengue, mediante la cual se escapa agua y proteínas hacia el espacio extravascular y se produce la hemoconcentración y a veces choque hipovolémico (Ver anexos, Figura 7).

La infección viral induce apoptosis de linfocitos T en los primeros días que de acuerdo a su intensidad puede influir favorablemente en la desaparición del virus o puede provocar la lisis de grandes cantidades de esas células y disminuir transitoriamente la competencia inmunológica del paciente, así como provocar daños en otras células y tejidos del huésped, tales como los endotelios, hepatocitos, miocardiocitos, neuronas, células tubulares renales, lo cual podría explicar la afectación de muchos órganos durante esta infección (Correa, 2014).

En un estudio realizado por Martínez sobre el Dengue como epidemia del siglo XXI en el año 2013 indica que durante la infección se han detectado en el hígado necrosis, esteatosis y cuerpos de Councilman (probablemente células apoptóticas), y aunque el virus del dengue se ha encontrado en el interior de los hepatocitos no hay inflamación del hígado, por lo que la necrosis y la apoptosis observadas son debidas al virus y no a mediadores inflamatorios; como manifestación clínica que predominó en los pacientes atendidos estuvo la hepatomegalia, con epigastralgia y discreta elevación de las enzimas hepáticas, lo que se explica por la presencia del virus en la célula hepática (Martínez, 2013).

La trombocitopenia se produce por destrucción de plaquetas en sangre periférica por un mecanismo inmuno-mediado. Los sangramientos durante el dengue no están en relación directa con la intensidad de la trombocitopenia pues se producen por un conjunto de factores. Las causas de los sangramientos en el dengue son múltiples incluidos los vasculares y algunas alteraciones de la coagulación por acción cruzada de algunos anticuerpos antivirales contra el plasminógeno y otras proteínas, así como un desbalance entre los mecanismos de la coagulación y los de la fibrinólisis (Martínez, 2008).

Cuando ocurre una segunda infección por serotipos heterólogos hay una concentración alta de complejos del nuevo virus con inmunoglobulina G (IgG) y se forman inmunocomplejos que fagocitan las células mononucleares. Se produce una amplificación de la infección mediada por anticuerpos o inmunoamplificación con una gran replicación viral y aumento de la viremia, lo cual

determina la gravedad de la enfermedad. Sin embargo se consideran que las diferencias en la patogenicidad de las cepas virales explican las formas graves del dengue. En la práctica, en una misma epidemia de dengue coexisten factores del huésped y el serotipo, así como factores epidemiológicos o ambientales (García, 2016).

#### **6.4.4 Transmisión**

La transmisión del virus del dengue es únicamente vectorial, siendo el mosquito *Aedes aegypti* el involucrado en nuestro país. No existe el contagio directo de persona a persona.

El virus circula en la sangre de los seres humanos infectados durante 2 a 7 días, coincidiendo aproximadamente con el período febril; la hembra de *Aedes aegypti* pueden adquirir el virus cuando se alimentan de una persona durante este período (viremia), infecta las células epiteliales del intestino medio del mosquito, se disemina a través de la lámina basal hacia la circulación e infecta las glándulas salivales del mismo; en este sitio se establece una infección persistente con replicación importante en estas células.

Todo este ciclo, dependiente de la temperatura ambiente, ocurre en el interior del organismo del mosquito (llamado período de incubación extrínseco) y dura entre 8 y 12 días, momento en el cual el mosquito se vuelve infectante y queda disponible para que en una nueva picadura a individuos susceptibles, pueda transmitirle el virus manteniendo la cadena infectado-vector-huésped susceptible. Tras picar al hospedero, el mosquito regurgita saliva llena de virus hacia la sangre de la víctima. El virus circula en forma libre por el plasma y entra en contacto con células susceptibles, tales como células endoteliales de capilares, macrófagos, monocitos y otras células del sistema fagocítico mononuclear (Bacallao, 2013).

Entre la inoculación del virus por la hembra del *Aedes* y la aparición de los síntomas hay un lapso de 3 a 14 días, en promedio 7 días (Arredondo, 2016).

La competencia vectorial definida como la habilidad intrínseca del vector para transmitir una enfermedad causada por DENV, asociado a factores intrínsecos y relacionados con las bases genéticas del vector. Entre los indicadores de riesgo de transmisión esta la tasa de infección por DENV se calcula utilizando parámetros basados en estudios realizados en Australia por Ritchie y colaboradores (Eiras & Resende, 2009; Ritchie et al., 2004), donde se mostró que más de dos hembras grávidas de *Ae. aegypti* indican una zonas de infestación media y que a su vez se asocian

con el riesgo de aparición de casos de dengue y sus serotipos, considerándose así zonas sin infestación (0-0.5) infestación baja (0.6-2.5), infestación media (2.6-4.5) y alta (4.6-100) de acuerdo a lo establecido por Ritchie (2004). Las tasas de infección son calculadas considerando los parámetros de las tasas de infección mínima (número de pool positivos/ total de hembras analizadas \* 1000).

## **6.5 Determinantes de la transmisión del dengue**

### **6.5.1 Factores de riesgos ambientales y sociales**

Durante los últimos años la población mundial se ha duplicado y la mayor aceleración en el crecimiento poblacional ha tenido lugar en los países en desarrollo de las zonas tropicales y subtropicales donde el dengue es endémico. Diversos factores se combinan para producir condiciones favorables para la transmisión del dengue. Entre ellas, la urbanización del entorno, aunado al crecimiento demográfico y las deficiencias en la infraestructura urbana básica, como el abastecimiento irregular del agua, que obliga a los usuarios a acopiar y almacenar agua, en adición al aumento de residuos sólidos (recipientes desechables), derivado de los nuevos hábitos de consumo, incrementando así los criaderos potenciales para la cría de los mosquitos vectores.

Sumado a esto la migración del campo a las ciudades y el aumento de la frecuencia con que se trasladan las personas desde zonas del mundo donde circulan diferentes serotipos del virus. De la misma manera, las condiciones ambientales que han hecho posible la emergencia del dengue han ido cambiando el nicho ecológico del vector, favoreciendo su expansión geográfica, ampliando su ciclo de transmisión y asegurando su establecimiento en nuevas zonas. Prácticamente todas ciudades costeras y subtropicales del país tienen las condiciones propicias para que el dengue se presente de manera epidémica (Gómez, 2015).

### **6.5.2 Efecto de la temperatura y precipitación**

La precipitación y la temperatura en ciertas áreas son variables y proporcionan condiciones ideales que influyen sobre el mosquito *Aedes*, desde su desarrollo hasta la relación con el virus, la variabilidad diaria, estacional e interanual en la temperatura, humedad atmosférica y la precipitación pueden influir en las poblaciones de mosquitos y competencia vectorial. La transmisión del dengue es casi siempre estacional; los casos se incrementan durante la estación cálida y lluviosa (García & Monroy, 2019). Al ser los insectos poiquilotermos, algunos de sus

procesos biológicos como la maduración sexual, la cópula y la oviposición se ven afectados por la temperatura ambiental, de manera que a temperaturas adecuadas (entre 26 y 28°C) aumentan la cinética del desarrollo y la supervivencia de todas las etapas del insecto (Bethencourt, 2017).

Este rápido desarrollo y supervivencia del insecto por la temperatura favorece la proliferación de vectores en el ambiente, lo que podría representar una mayor transmisión, ya que llega prontamente a su etapa adulta. En temperaturas superiores el desarrollo del mosquito cae dramáticamente, aunque algunos estudios han revelado que se han presentado eclosiones larvales a temperaturas altas, lo que puede significar una posible respuesta fisiológica adaptativa (Márquez, 2019).

Por otro lado, se ha demostrado una equivalencia entre la temperatura y la humedad relativa con la oviposición, donde un aumento en la temperatura crítica mínima (más de 10°C) se asocia con un aumento en la actividad de oviposición tres semanas después; por el contrario, no se ha encontrado presencia de huevos cuando la temperatura desciende por debajo de 10°C. Además, se ha descrito poca actividad de oviposición de *A.aegypti* durante los inviernos secos, mientras que ha sido mayor durante la temporada de lluvias (Montenegro, 2019).

De acuerdo a un estudio realizado en Colombia por Uribe en el año 2013, en regiones como Córdoba se mostró que las variables climáticas como temperatura del aire y precipitación, además del estado de la vegetación, se relacionan significativamente con la aparición del dengue. Esto pone en evidencia la intensidad del efecto que ejerce la temperatura local sobre la transmisión, siendo la variabilidad climática esencial sobre la incidencia del virus del dengue y la afectación de la biología del *Aedes* respecto a capacidad y competencia vectorial, ciclos gonotróficos y frecuencia de alimentación. Se ha estimado también que donde hay temperaturas con promedios diarios por encima de 28°C y temperaturas máximas por encima de 32°C tienden a presentar menor incidencia de dengue que aquellas ciudades con promedios menores de temperatura diaria (Uribe, 2013).

### **6.5.3 Demográficos**

La alta densidad de población en zonas con mayor número de personas hay más probabilidad de transmisión del virus una vez se haya introducido en la población con la presencia del vector. El porcentaje de población urbana, una urbanización no controlada ni planificada, que genera la aparición de grandes cinturones de pobreza, condiciones críticas de hacinamiento, carencia de servicios básicos, escasez de recursos energéticos y deficiencias en los sistemas de agua y de

recolección de basura. Los neumáticos inservibles sin un destino, y los recipientes plásticos no biodegradables (que llenan las comunidades y los vertederos a cielo abierto) son criaderos potenciales del vector.

#### **6.5.4 Sociales**

En las Américas, el dengue es principalmente una enfermedad urbana, su transmisión está relacionada con densidades de población de moderada a alta, una urbanización no planificada y densidades habitacionales muy elevadas. Las casas que tienen puertas y ventanas con tejidos metálicos inadecuados y que carecen por completo de tejido protector permiten el acceso de los mosquitos y los desagües bloqueados con la basura favorecen su reproducción. El agua almacenada en los hogares durante más de una semana y el uso de tambores y tanques destapados para almacenar agua crean focos de proliferación (Ortega, 2015).

En muchas comunidades los sistemas de abastecimiento de agua corriente individual son escasos y los surtidores públicos proporcionan agua sólo en forma intermitente en consecuencia, almacenan el agua potable en barriles, se van extendiendo los focos. Los sistemas inadecuados para la recolección y almacenamiento de desechos sólidos y el abandono de objetos voluminosos como automóviles viejos, facilitan la proliferación de foco. Los neumáticos y recipientes pequeños en desuso con capacidad para menos de 50 litros de agua han sido asociados con un mayor riesgo de transmisión del dengue.

#### **6.5.5 Estado socioeconómico**

Es otro factor determinante de la transmisión del dengue, sin embargo, en cualquier comunidad, los vecindarios más ricos o los más pobres pueden propagar grandes cantidades de foco. Las mujeres y los niños pequeños que pasan largos períodos de tiempo en el hogar, con una actividad mínima durante las horas del día, pueden experimentar exposiciones más largas a mosquitos potencialmente infectados que las personas que están fuera de la casa o activas. Las creencias o conocimientos de las familias sobre el dengue sus causas y las medidas para prevenirlo y controlarlo influyen en el nivel de saneamiento del ambiente doméstico y, en última instancia, determinan la disponibilidad de lugares de producción de larvas en el entorno domiciliario (Hernández, 2007).

## **6.6 Diagnóstico**

El diagnóstico y confirmación etiológica de la infección por dengue puede ser realizado mediante ensayos virológicos (aislamiento viral, detección de material genético) o por medio de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos tipo IgM.

### **6.6.1 Aislamiento viral**

Uno de los sistemas biológicos más empleados en el aislamiento a pesar de su baja sensibilidad, ha sido el ratón lactante inoculado por vía intracerebral. También se han utilizado diferentes sistemas celulares de mamíferos entre los que se encuentran las líneas celulares: BSC-1, VERO, BHK21, LLCMK2. Sin embargo por su complejidad es poco utilizado como método diagnóstico de rutina y se recomienda únicamente para estudios de investigación o caracterización complementaria a la vigilancia en salud pública.

En las últimas décadas se han desarrollado una serie de líneas de mosquitos que han resultado ser mucho más sensibles a la infección por el virus que con los sistemas anteriores. Dentro de las más utilizadas se encuentran las células AP61, C6\36, TRA-284 y C6\36 HT. La elevada sensibilidad de estos sistemas, ha permitido alcanzar un alto índice de aislamiento (Girard, 2015).

### **6.6.2 Detección molecular**

Durante los primeros 5 días desde el inicio de síntomas (fase aguda, período virémico) es posible realizar la detección del RNA viral a partir de una muestra de suero mediante técnicas moleculares como la Transcripción Reversa seguida de Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR, por sus siglas en inglés) convencional o en tiempo real. Un resultado de PCR positivo (en presencia de controles adecuados) confirma el diagnóstico.

### **6.6.3 Inmunológicas**

#### **6.6.3.1 Titulación del virus del dengue y neutralización por reducción del número de placas.**

Entre los métodos de identificación del dengue, la técnica de neutralización por reducción del número de placas ha sido ampliamente utilizada por su elevada especificidad. Para esta prueba los virus pueden ser aislados en cualquier sistema aunque en ocasiones es necesario realizar un pase por una línea de células de mamífero permisiva como son las células LLCMK2, Vero y las de mosquito. La utilización de las células BHK21 en la técnica de placas (por micrométodo) ha

brindado resultados satisfactorios y rápidos. La misma es útil, no sólo para la identificación, sino también para la detección de anticuerpos contra virus dengue (OPS/OMS, 2009).

### ***6.6.3.2 Hemaglutinación e inhibición de la hemaglutinación***

La hemaglutinación (HA) es la unión de los eritrocitos producida por el virus o por alguna estructura del mismo. El resultado visible de la HA viral es un patrón formado en el fondo del pozuelo por los eritrocitos unidos por la hemaglutinina viral. En la hemaglutinación directa el virus actúa directamente sobre las células y esta propiedad puede ser inhibida por anticuerpos específicos al virus. En el caso de los arbovirus la propia partícula viral es la hemaglutinina no existiendo enzima destructora del receptor como en los orthomyxovirus. Los anticuerpos obtenidos contra los diferentes arbovirus poseen una amplia reactividad de grupo por lo que la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH) se utiliza para clasificar los mismos en grupos antigénicos.

### ***6.6.3.3 ELISA***

Los anticuerpos IgM en suero se pueden detectar en los pacientes con dengue como muy pronto a los 3-5 días del inicio de la fiebre y, en general, persisten durante 30-90 días, aunque pueden permanecer niveles detectables de anticuerpos hasta ocho meses después de la infección. Un resultado positivo de IgM mediante la técnica de ELISA (MAC-ELISA o cualquier otro inmunoensayo) en una muestra tomada después del quinto día de inicio de síntomas, es presuntiva de infección reciente por dengue.

Un suero único en fase aguda es considerado presuntivo, por lo que se recomienda la toma de una segunda muestra entre una y dos semanas después de la primera muestra para demostrar seroconversión (negativo a positivo) o incremento hasta cuatro veces el título de anticuerpos (con un ensayo cuantitativo). La reactividad cruzada con otros flavivirus (principalmente en infecciones secundarias) debe ser considerada en áreas donde la co-circulación con otros flavivirus (Zika, fiebre amarilla, etc.) está documentada y existe probabilidad que la población haya sido previamente infectada (Hidalgo, 2017).

## **6.7 Sistemas de vigilancia**

### **6.7.1 Vigilancia entomológica**

La vigilancia entomológica se emplea para determinar los cambios en la distribución geográfica del vector, para obtener mediciones relativas de la población de vectores a lo largo del tiempo y para facilitar las decisiones apropiadas y oportunas en lo referente a intervenciones. Los sistemas de vigilancia para prevenir epidemias de Dengue se han apoyado en los índices larvarios, obtenidos a partir de la inspección de contenedores con agua existentes dentro y alrededor de los sitios inspeccionados (Sánchez, 2013).

Tanto en zonas endémicas como en aquellas que presentan brotes, las estrategias de vigilancia entomológica permiten conocer la dinámica de los vectores en el área. Cuenta con un conjunto de acciones orientadas al registro sistemático de información técnica/operativa sobre la distribución del *Aedes aegypti* para la prevención del Dengue, Chikungunya y Zika, permitiendo mejorar la recolección de datos de manera estandarizada, y así se tengan un mejor conocimiento y caracterización de la enfermedad, lo que fortalece sus decisiones en materia de prevención y control tanto del mosquito que la transmite como de la propia enfermedad.

### **6.7.2 Vigilancia entomoviológica molecular**

Se realiza un análisis a través de técnicas moleculares con el fin de proveer información sobre los serotipos del dengue circulantes y detectar oportunamente la introducción de nuevos serotipos en un área.

#### **6.7.2.1 Recolección de mosquitos**

Los mosquitos adultos se colectan por un aspirador entomológico (Casas et al., 2013); la aplicación de una metodología sistemática tanto en el proceso de captura del mosquito como en el de empaque y remisión de los especímenes que se han de identificar en el laboratorio de entomología, el cual permite no solo que el material llegue al laboratorio en buenas condiciones sino también que se pueda realizar la identificación objetiva y precisa acorde con las características morfológicas que presenta cada uno de los ejemplares.

Para ello realizan la búsqueda activa de ejemplares en cada lugar de muestreo, se colectan con un aspirador entomológico y se almacenan en criotubos conteniendo solución estabilizadora para que

este no sea degradado por enzimas ribonucleasas, y luego ser transportados en cadena fría hasta el Laboratorio de Entomología del CNDR y almacenarlos a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Posterior a la colecta una vez recibidos en el laboratorio de Entomología, los mosquitos serán identificados, y seleccionados según especie de *Aedes aegypti* y continúan siendo conservados en criotubos manteniendo la cadena de frío.

#### **6.7.2.2 Obtención del clarificado**

Para extraer las partículas virales que están dentro del mosquito, se procede a homogenizar cada mosquito colectado y obtener el sobrenadante donde se encuentran las partículas virales (Sánchez, 2013). Cada grupo de mosquitos se homogeniza en el medio MEM suplementado (medio esencial mínimo complementado) con 1% de amino ácidos no esenciales, 1% de L-glutamina, 1% de vitaminas y 6% suero fetal bovino que funcionan como crio preservador, y se almacenan a  $-70^{\circ}\text{C}$  para su posterior procesamiento (Hidalgo, 2010).

#### **6.7.2.3 Extracción**

Una vez que se tiene el clarificado de los mosquitos, el ARN se extrae utilizando el kit comercial (Qiagen) siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante. (Ver anexos Fig. 9)

#### **6.7.2.4 Técnica de RT-PCR tiempo real**

La PCR en tiempo real es una técnica que combina la amplificación y la detección en un mismo paso, al correlacionar el producto de la PCR de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad de fluorescencia. Es el método más sensible para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos. Aun teniendo una cantidad muy pequeña de templado, el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia (Ibarra, 2013).

La retrotranscripción (reacción RT) es un proceso por el que una hebra de RNA se retrotranscribe en una cadena complementaria, que llamamos cDNA. Para ello se necesita un enzima retrotranscriptasa. El programa de amplificación debe hacer una transcripción inversa a  $50^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos, una desnaturalización a  $95^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos y a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 2 minutos. La amplificación se hace en 30 ciclos con las siguientes temperaturas: desnaturalización a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 30 segundos; alineamiento a  $55^{\circ}\text{C}$  durante 30 segundos, extensión a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 30 segundos, y una extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos (Olano et al., 2017).

La detección viral se lleva a cabo mediante la técnica RT-PCR, que utiliza iniciadores que tienen como blanco una región NS3 del virus.

## **6.8 Control y Prevención**

El realizar vigilancia entomológica, intensifica las acciones de control vectorial teniendo en cuenta la guía de gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión del dengue e informar a la comunidad riesgos y medidas de prevención de la enfermedad por lo que la OMS promueve un enfoque estratégico conocido como control integrado de vectores con el fin que se interrumpa el contacto entre estos y los seres humanos; las actividades para controlar la transmisión deben centrarse en los mosquitos *Aedes aegypti* ( u otros vectores, siempre que haya prueba de que transmiten el dengue) en estadios inmaduros huevo, larva y pupa y en la etapa adulta en el interior de las viviendas y espacios adyacentes (OMS, 2015).

Los programas de control y prevención del virus del dengue se implementan en los distintos países del mundo con el fin de reducir o eliminar los casos de dengue; por ello la OMS promueve distintos proyectos utilizando métodos para el control vectorial, uso seguro de insecticidas y la protección de personas; la principal medida de control es la eliminación de sus posibles criaderos y la aplicación de larvicidas a lugares donde haya aguas estancadas. La fumigación de insecticidas para mosquitos adultos durante las epidemias urbanas es otra opción, pero poco recomendable, porque genera resistencias. Se recomienda eliminar sitios donde se acumula agua como tanques de agua, neumáticos, entre otros. Así como fumigación de las casas, sitios de trabajo y de estudio, hay que destacar que el pilar fundamental de la campaña de control es la eliminación de los criaderos de *Aedes* (Anquez, 2016).

Una de las propuestas, para lograr el control del dengue es el sistema de vigilancia entomológica al no existir tratamiento o vacuna disponible, la única vía de evitar la enfermedad es el combate con el vector; es por ello las autoridades de atención primaria deben promocionar campañas de limpiezas permanentes en los hogares, cauces y áreas verdes involucrando a todos los sectores sociales, empresas y red comunitaria (Alvarez, 2007).

## **7. Diseño metodológico**

### **7.1 Tipo de estudio**

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo de corte transversal.

## **7.2 Área de estudio**

El estudio se realizó en los 19 SILAIS de Nicaragua (Nueva Segovia, Madriz, Chinandega, Jinotega, León, Granada, Masaya, Managua, Carazo, Rivas, Estelí, Matagalpa, Chontales, Boaco, Zelaya Central, Las Minas, Bilwi, Región Atlántico Costa Caribe Sur, Río San Juan.)

## **7.3 Universo**

El universo estuvo conformado por 7,005 muestras de ARN de mosquitos *Aedes aegypti* procesados de los 19 SILAIS de Nicaragua equivalente a 358 pools.

## **7.4 Muestra**

La muestra del estudio consiste en ARN purificado de mosquitos *Aedes aegypti*.

253 muestras de ARN de mosquitos *Aedes aegypti* positivos para el virus del dengue procesados de los 19 SILAIS de Nicaragua equivalente a 22 pools.

### **Tipo de muestreo**

El muestreo es, no probabilístico por conveniencia, según los criterios de inclusión y exclusión:

#### **Criterios de inclusión**

- 1- Muestras de ARN correspondiente al período de estudio (2019-2020)
- 2- Muestras de ARN que presenten ficha epidemiológica completa en base de datos entomoviológica.

#### **Criterios de exclusión:**

- 1- Muestras de ARN con resultados indeterminado para DENV (fuera del rango  $\pm Ct$ )
- 2- Muestras de ARN que no estén conservadas en ultra baja temperatura (-70 a -126 °C).

## 7.5 Operacionalización de las variables

Variables	Subvariable	Indicadores	Valores	Criterio	Instrumento
Serotipos	DENV-1 DENV-2 DENV-3 DENV-4	Según Kit CDC	Positivo Ct: 30-38  Negativo Ct: ≤ 29	Control (NTC) Si el Ct=0 para D1, D2, D3, D4, y Ct ≤40 para el control interno, el control es válido.	Multiplex RT-PCR
Frecuencia de Serotipos  y  Tasa mínima de infección	SILAIS: CHI NS MA MY GR LE MGA RI CA ES JI MT CHO BO ZE LMI BW RACCS RSJ	Enero-Diciembre 2019 Enero-Octubre 2020  $\text{MIR \%} = \frac{\text{\# de pool positivos}}{\text{total de hembras analizadas}} (1000)$	-  Zonas sin infestación (0-0.5) Infestación baja (0.6-2.5) Infestación media (2.6-4.5) Infestación alta (4.6-100)	Si-No	Resultados de serotipaje
Serotipos reportados	ARN del <i>A. aegypti</i>	DENV-1 DENV-2 DENV-3 DENV-4	Total de serotipos detectados Año 2019-2020	—	Ficha de recolección de datos
	Paciente		Total de serotipos reportados Año 2019-2020		

## 7.6 Métodos, técnicas e instrumentos para la recolección de información

### Tipificación del virus del Dengue

Se seleccionó de la ADNoteca el RNA total extraído de los mosquitos positivos, procedimiento realizado por el CNDR haciendo uso del kit Qiagen® para su extracción (ver anexos Figura 8), a partir de ello procedimos a realizar la tipificación mediante una PCR múltiplex utilizando el Kit de amplificación del CDC diseñado para detectar serotipos DENV en mosquitos, el cual está en proceso de certificación en cuatro países (México, Brasil, Argentina y Nicaragua); para cada serotipo del virus se usaron sondas marcadas con diferentes fluoróforos (sonda D1, D2, D3, D4) haciendo posible la detección así como la tipificación simultánea del virus del dengue presente en la muestra. El procedimiento a detalle es omitido por disposición del Ministerio de Salud (MINSa) se adjunta carta de justificación técnica ver en anexos.

### Reactivos utilizados para la reacción

Agua libre de nucleasas
2X PCR Master Mix
Oligonucleótido iniciador D1-F
Oligonucleótido iniciador D1-R
Oligonucleótido iniciador D2-F
Oligonucleótido iniciador D2-R
Oligonucleótido iniciador D3-F
Oligonucleótido iniciador D3-R
Oligonucleótido iniciador D4-F
Oligonucleótido iniciador D4-R
Sondas (DENV-1-4)
Taq Mix

### Equipo

Instrumento de RT-PCR en tiempo real 7500 Fast Dx de Applied Biosystems

## **Procedimiento**

Se inició en el cuarto blanco con la preparación de la Master Mix, agregando cada uno de los reactivos correspondientes para la amplificación luego se preparó la placa a utilizar donde se agregó la misma cantidad a cada uno de los pocillos, una vez preparada se procedió a pasar al cuarto gris donde se colocó el ARN extraído de las muestras positivas y los controles correspondientes, luego se pasó al cuarto negro donde se preparó el equipo y se introdujo los datos en la plantilla para la amplificación, colocándose la placa dentro del termociclador para iniciar el proceso, obteniendo el resultado en 120 min, para finalizar se realiza un análisis de los resultados.

Una vez obtenido los resultados se calculó la tasa mínima de infección correspondiente al año 2019-2020 de acuerdo a lo establecido por (Ritchie, 2004) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{MIR \%} = \frac{\text{\# de pool positivos}}{\text{total de hembras analizadas}} (1000)$$

En cuanto a la información de los serotipos reportados en pacientes se obtuvo de la base epidemiológica de datos del MINSA correspondiente del año 2019 al 2020 a través de una ficha de recolección de datos (anexos). De la cual se elaboró una base de datos secundaria en base al objetivo planteado, para dar salida a la variable en estudio

### **7.7 Aspectos éticos**

Mediante el consentimiento del Ministerio de Salud (MINSA) se accedió a las muestras para su procesamiento en el laboratorio de biología molecular del área de Entomología, los datos obtenidos serán utilizados solo con fines académicos sin conflictos de intereses, siguiendo así las instrucciones que el CNDR oriente.

### **7.8 Limitaciones del estudio**

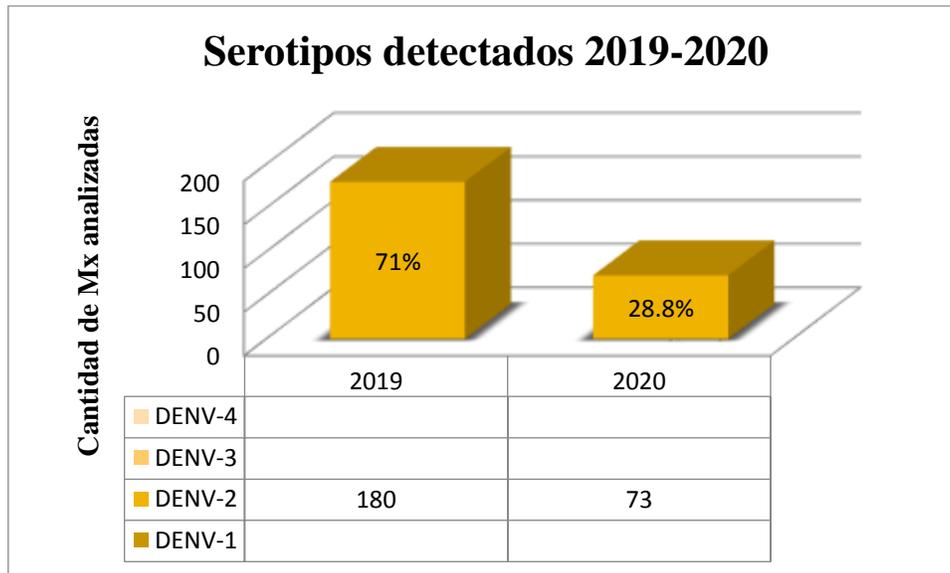
- 1- Al ser un estudio que usa una muestra del Banco de ADNoteca, estas escapan de la observación directa del grupo.
- 2- Por el uso de muestras y controles en proceso de certificación se omiten procedimientos (secuencias) por disposición del Ministerio de Salud (MINSA).

## **7.9 Plan de tabulación y análisis**

Se diseñó una base de datos en Microsoft Excel 2010, para la ejecución de tablas simples, y gráficos, para la elaboración de los mapas dinámicos se utilizó el programa Pixel Map Generator y Genially map, el programa Microsoft Word 2010 para la redacción del documento e informe final y el programa Microsoft PowerPoint en efectos de las diapositivas para la elaboración de la presentación en la defensa del documento.

## 8. Análisis y discusión de los resultados

**Figura 1. Serotipos del virus del Dengue detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* mediante RT-PCR de los SILAIS de Nicaragua durante el período 2019-2020.**

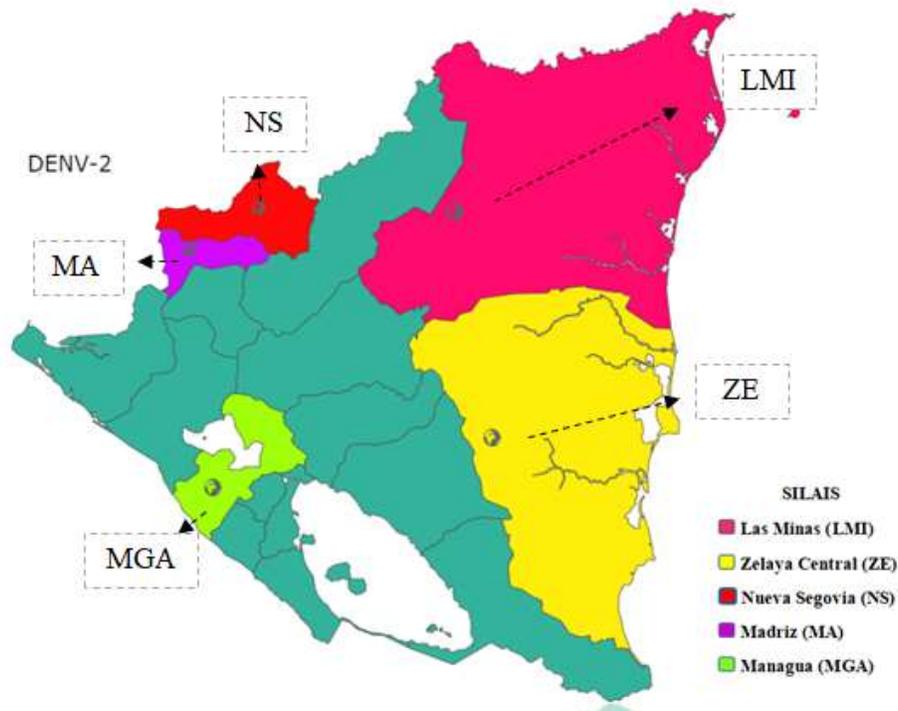


La figura número 1 refleja los resultados del 2019-2020 obtenidos de la tipificación del virus del Dengue en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* mediante la técnica de PCR Multiplex en tiempo real donde el 100% (253 mosquitos hembras, 22 pools) de las muestras analizadas resultaron ser DENV-2, siendo el 71.2% (180 mosquitos hembras, 15 pools) de mosquitos positivos correspondientes al año 2019 y el 28.8% (73 mosquitos hembras, 7 pools) pertenecen al año 2020, resultados similares se encontraron en el estudio de Sánchez en la ciudad de Cancún, México en el año 2013 acerca de Identificación y serotipificación del virus dengue en poblaciones domésticas de *Ae. aegypti* (Sánchez, 2013) amplificando únicamente DENV-2 en 6 de 419 (1.4%) hembras *Ae. aegypti* colectadas en las localidades de estudio, pese a que en México circulan los cuatro serotipos, sólo una baja población amplificó para uno de estos Serotipos.

En un estudio realizado en Colombia sobre la dinámica poblacional y búsqueda de infección natural con virus dengue en poblaciones de *Aedes aegypti* en el municipio de Sincelejo en el año 2015 se examinó un total de 1,432 (541 pooles) mosquitos *Ae. aegypti*, donde se detectó que circulan los cuatros serotipos del virus del Dengue y evidenciaron que los más frecuentes fueron DENV-3 (63%) y DENV-2 (31%), (Manjarrez, 2015), en Mesoamérica la OMS ha registrado que el serotipo

más frecuente en estos países es el DENV-2 (según datos epidemiológicos de OMS, 2019), de igual forma ha reportado que en Nicaragua tiene cuatro años de estar circulando el DENV-2 en pacientes. Los resultados obtenidos por el grupo colombiano y los datos reportados por OMS validan el hallazgo encontrado por nuestro estudio donde el DENV-2 fue detectado en el ARN de mosquitos *Ae. aegypti* colectados en la Vigilancia Entomoviroológica y amplificados por esta técnica molecular.

**Figura 2. Frecuencia de los serotipos del DENV circulantes en mosquitos *Aedes aegypti* en los SILAIS durante el año 2019.**



Durante el año 2019 los datos obtenidos de la tipificación del virus del Dengue en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* positivos mediante la técnica de RT-PCR fueron los siguientes: SILAIS Las Minas (3 mosq./1 pool), Zelaya Central (2 mosq./1 pool), Nueva Segovia (40 mosq./3 pools), Madriz (35 mosq./3 pools), y Managua con los Distritos VI (80 mosq./5 pools) –VII (20 mosq./2 pools), siendo un total de 15 pools en los que predominó el serotipo DENV-2; con esto se puede observar que no está focalizado en una zona, y que se encuentra distribuido en la mayor parte del territorio.

Por las características del vector podemos inferir que el mosquito prefiere la urbanización rápida y desorganizada, así como la expansión de barrios, que ofrecen los materiales de desecho y los recipientes ideales para que el mosquito transmisor desarrolle su ciclo biológico. La ineficiente recolección de envases no biodegradables e inadecuado suministro de agua; malas condiciones de acueductos y alcantarillados determinan la permanencia del vector en un área determinada.

El desafío que enfrenta el sector salud a través de los programas de control de dengue se ve influido parcialmente por la limitada participación comunitaria en la prevención y control, las estrategias

para lograr el cambio en el ámbito doméstico y comunitario incluyen la sensibilización de la población que persigue un cambio de conducta y fomentar los buenos hábitos de higiene en el hogar pero estos en ocasiones resultan insuficientes sin un abastecimiento de agua permanente y la eliminación de desechos periódicos y continuos que puedan servir de criaderos para el vector.

Hallazgos similares presentó Cárdenas en el año 2015 en una investigación realizada en Ecuador sobre la Prevalencia y Serotipificación del virus del dengue en *Aedes aegypti* mediante RT-PCR, donde evaluó la distribución de los serotipos del DENV en el país, identificando su circulación en Santo Domingo, ciudad con un acelerado proceso de urbanización desorganizada, detectando a partir de 49 muestras, 12 mosquitos positivos, tres serotipos DENV-1 (1), DENV-3 (1), y DENV-2 (10), al igual que en nuestro estudio el serotipo DENV-2 ha sido el que más predominó en el tiempo, con una amplia distribución favorecido por las condiciones sociodemográficas, climáticas y de vegetación que han condicionado el desarrollo y supervivencia del *Aedes aegypti* en el territorio.

**Tabla 1:**

**MIR= Tasa de infección mínima por cada 1000 mosquitos procesados en el año 2019**

Año	# total de mosquitos	# total de mosquitos positivos	# Pools	# Pools positivos	MIR %	Parámetro (Índice de infestación)
2019	5002	180	193	15	2.998 %	Infestación Media

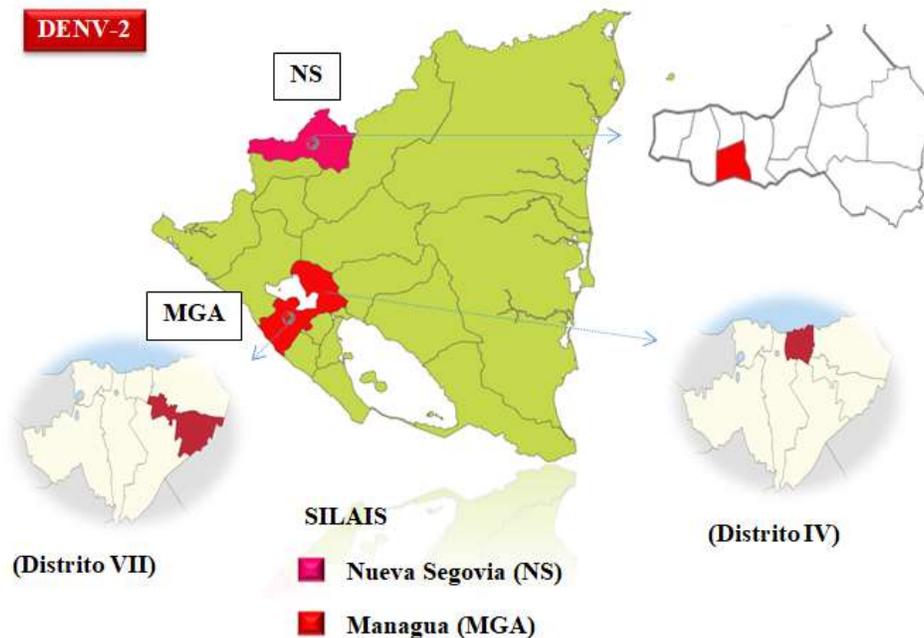
Se calculó la tasa mínima de infección del año 2019, tomando en cuenta los siguientes parámetros así zonas sin infestación (0-0.5) infestación baja (0.6-2.5), infestación media (2.6-4.5) y alta (4.6-100) de acuerdo con lo establecido por Ritchie (2004). Las tasas de infección fueron calculadas mediante la siguiente fórmula:

$$\text{MIR \%} = \frac{\text{\# de pool positivos}}{\text{total de hembras analizadas}} (1000)$$

Obteniendo una tasa general de 2,9/1000 mosquitos procesados, lo que representó una tasa de infestación media, lo cual no es sorprendente si se considera la epidemia que se registró en el país durante este período; y que coinciden con estudios realizados en Australia por Ritchie y colaboradores (Ritchie et al., 2004), donde se mostró que más de dos hembras grávidas de *Ae. aegypti* indican una zona de infestación media y que a su vez se asociaban con el riesgo de aparición de casos de dengue y sus serotipos. El hecho de encontrar un mosquito positivo, hace posible que se identifique las áreas con mayor riesgo y se puedan concentrar los esfuerzos en dicha área, siendo la tasa de infección útil para estimar la prevalencia de dengue y sus serotipos en una población de mosquitos, que se relaciona proporcionalmente con su capacidad de competencia vectorial, entre los factores relacionados con el vector, la competencia vectorial es considerada de gran importancia, pues se refiere a la capacidad intrínseca del vector para infectarse con el virus, permitir su replicación y posteriormente su transmisión a un huésped susceptible.

Entre más alta sea la tasa de infección precede un aumento en la transmisión, ya que mayor es el nivel de capacidad que este tiene de infectarse y transmitir la enfermedad, de esta forma lo posibilita como un indicador que permite orientar a las autoridades de salud para ejercer acciones de control que conduzcan a reducir el impacto de la enfermedad (Gil, 2010). Hallazgos similares presentó Günther en su estudio realizado en las regiones de Tuxtepec y Juchitán en México 2008 sobre Detección y tipificación del virus del dengue en el vector *Aedes aegypti* (Günther, 2008) en el cual encontró DENV-4 en 40 Mosquitos, DENV-3 en 20 y DENV-2 en 20 de los 860 especímenes adultos *Ae. aegypti* hembras provenientes de diferentes localidades, con una tasa de infección general de 4,9/1000 (tasa de infestación alta) de acuerdo a lo establecido por Ritchie, lo cual confirmó la endemidad en la región, presentando similitud con lo realizado en nuestro estudio.

**Figura 3. Frecuencia de los serotipos del DENV circulantes en mosquitos *Aedes aegypti* en los SILAIS durante el 2020.**



En el año 2020 fueron positivos los SILAIS: Nueva Segovia (20 mosquitos hembras, 2 pools positivo), y los Distritos IV (38 mosquitos hembras, 3 pools), y VII (15 mosquitos hembras, 2 pools positivos) de la ciudad de Managua observándose únicamente la circulación del serotipo DENV-2; datos similares encontró Solís en el año 2010 en su investigación sobre la Correlación cuantitativa de mosquitos positivos a dengue en relación con la población que desarrolla enfermedad en Colima; a partir de 50 muestras que procesaron por RT-PCR, solo cinco resultaron positivas, siendo estas serotipo DENV-1, en ambos estudios se evidencia la presencia de un solo serotipo y la importancia de mantener una vigilancia activa por la posible entrada de un serotipo diferente.

El crecimiento poblacional y la urbanización sin planeación, resultan en el hacinamiento de comunidades que viven en centros urbanos con viviendas deficientes e inadecuados sistemas de proporción de agua y manejo de residuos. Si a estos factores le sumamos el incremento en la migración de individuos a áreas endémicas del mosquito vector, y la amplia actividad económica, es claro entender la razón por la cual ha sido recurrente en salir positivo el distrito VII de la ciudad de Managua en ambos períodos del estudio; y que concuerda con lo descrito en un estudio realizado

por Alfaro en el año 2015 sobre la Caracterización epidemiológica de la epidemia de dengue en los distritos de Managua.

**Tabla 2:**

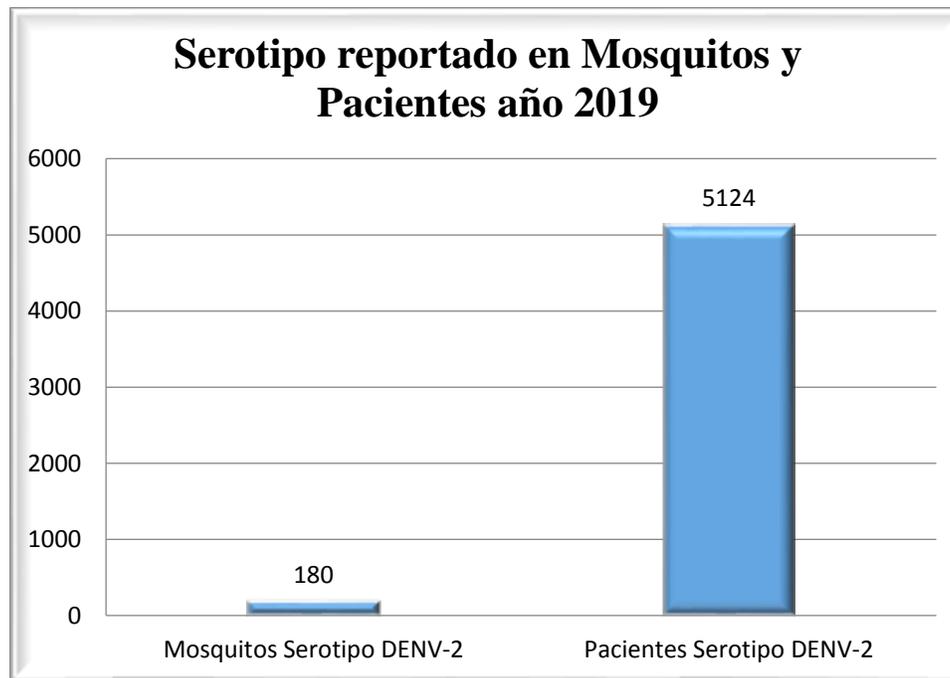
**MIR= Tasa de infección mínima por cada 1000 mosquitos procesados en el año 2020**

Año	# total de mosquitos	# total de mosquitos positivos	# Pools	# Pools positivos	MIR %	Parámetro (Índice de infestación)
2020	2003	73	165	7	3.4 %	Infestación Media

La tasa de infección general durante el 2020 fue de 3,4/1000 lo que representa una tasa de infestación media. Resultados similares encontró Sánchez en el año 2013 en una investigación sobre la Identificación y serotipificación del virus dengue, densidades y tasa de infección de poblaciones domésticas de *Ae. aegypti* en Cancún, México; sus resultados revelaron únicamente la presencia del serotipo DENV-2, con una tasa de infección general del 1.4% (tasa infestación baja), es probable que la diferencia en los valores de la tasa mínima de infección en ambos estudios se deba a las condiciones eco-epidemiológicas propias de cada localidad.

La disminución en el número de SILAIS positivos se debe a las intervenciones de vigilancia entomoviroológica activa realizada por el Ministerio de Salud desde el año 2019, logrando emplear la rápida aplicación de medidas anticipadas de control del vector, identificando y eliminando las áreas físicas vulnerables que puedan servir para la reproducción del mosquito, contribuyendo así en la interrupción de la transmisión y evitando futuras epidemias.

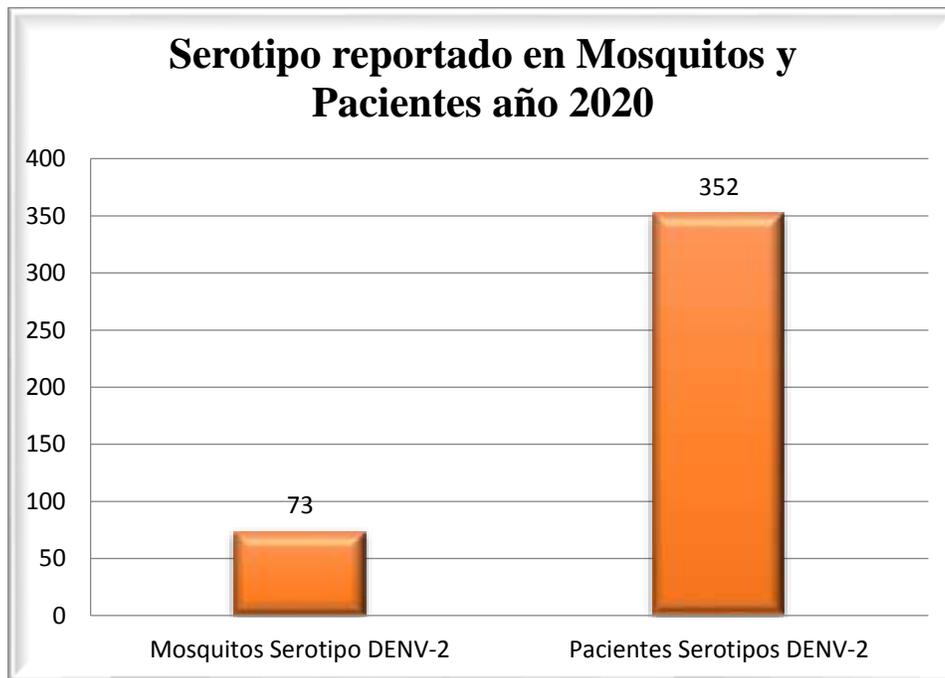
**Figura 4. Comparación de los serotipos detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* con datos epidemiológicos de pacientes reportados por los SILAIS en estudio en el año 2019.**



Nicaragua en el año 2019 se enfrentó a un nuevo brote de Dengue, reportándose alrededor de 5,124 casos con la presencia únicamente del serotipo DENV-2 y lo ubicó como el tercer país de mayor tasa de incidencia de Dengue en la Región de las Américas (OMS, 2019) resultados que coinciden al compararlos con los del vector (Ver datos de pacientes tabla 3 en anexos). Cabe mencionar que en el 2018 el Centro Nacional de diagnóstico y Referencia estandariza la técnica de detección del virus del dengue y otras arbovirosis en mosquitos colectados de los 19 SILAIS convirtiéndose así en una estrategia que favorecería las intervenciones y puesta en marcha de estrategias de control y prevención efectivas para limitar la permanente transmisión viral, en este mismo año comienzan las capacitaciones del personal en los SILAIS para la colecta de los mosquitos en campo, iniciando así en conjunto la vigilancia entomoviroológica en el año 2019.

Manjarrez y Mercado en el 2015 en un estudio realizado en Colombia sobre la dinámica poblacional y búsqueda de infección natural con virus del dengue en poblaciones de *Aedes aegypti* en el municipio de Sincelejo describen que sus resultados de serotipificación concuerdan con los reportados con las autoridades, donde circulaban los cuatro serotipos con mayor frecuencia el DENV-2, presentando características similares con lo expuesto en nuestro estudio.

**Figura 5. Comparación de los serotipos detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* con datos epidemiológicos de pacientes reportados por los SILAIS en estudio en el año 2020.**



Durante el período 2020, se reportaron en pacientes 352 casos de dengue en los que se observó únicamente el serotipo DENV-2 y que coincide con el detectado en los mosquitos. En este período se pudo observar una reducción marcada de los casos de dengue reportados en pacientes, debido a que ya existe una vigilancia entomoviroológica instaurada de mosquitos colectados en campo de los 19 SILAIS en apoyo para la adopción de decisiones en el control vectorial, evitando una epidemia como la originada en el año 2019.

En el estudio realizado por Coba en el año 2015 en Ecuador sobre la Prevalencia y Serotipificación del virus del dengue mediante RT-PCR en *Aedes aegypti* realizó una comparación de los resultados obtenidos en el vector con los reportados en las semanas epidemiológicas en los pacientes, predominando en ambos el serotipo DENV-2, similares resultados fueron obtenidos en nuestro estudio al comparar los datos de Dengue encontrados en pacientes con los del vector donde el serotipo DENV-2 fue el único detectado.

Cabe señalar que dentro de los lineamientos que tiene el SILAIS para escoger los sitios de colecta del vector establecidos antes de iniciar la vigilancia entomoviológica están que al momento de la elección del sitio de colecta las zonas no deben presentar casos de dengue y que por el interés de salud pública y económico se eligen las cabeceras departamentales, el 5% total de las manzanas de los sitios de elección serán seleccionadas aleatoriamente siguiendo los requisitos anteriores, cuatro viviendas por manzana (Mz), correspondiendo una casa por cada cara de la manzana electa, una vez seleccionada la vivienda y la manzana esta será la misma todos los meses y años a menos que esta vivienda pida la baja del estudio entonces se cambia la casa pero no la manzana.

Aunque no se identificó la cocirculación de uno o más serotipos distintos al DENV-2 el cual se mantiene circulando únicamente desde hace cuatro años, se conoce que en países como Honduras y Costa Rica se ha documentado previamente en humanos la detección del serotipo DENV-1 en el año 2019, por lo que no se excluye esta posibilidad de la introducción en un futuro de las localidades evaluadas sobre todo de las zonas fronterizas de nuestro país en donde se mantiene aún más una vigilancia activa.

Los resultados aquí reportados logran evidenciar que la vigilancia entomoviológica mediante técnicas moleculares constituye una poderosa herramienta para la prevención y el control, por funcionar como un medio para la detección temprana de brotes de Dengue, puesto que la vigilancia tradicional del virus es solo clínica, es decir, en base a casos o pacientes que llegan a los hospitales, y muchas veces este sistema falla, pues solo se presentan síntomas muy ligeros, la vigilancia virológica en mosquitos colectados en campo ha sido sugerida como un sistema de monitoreo muy sensible de alerta temprana para las epidemias de Dengue en áreas endémicas y para la detección de serotipos circulantes y recién introducidos.

## 9. Conclusiones

1. Se logró detectar únicamente el Serotipo DENV-2 en 253 muestras de ARN de mosquitos colectados en los 19 SILAIS durante el período 2019-2020, mediante la técnica molecular Multiplex RT-PCR que identifica los cuatro serotipos del virus del dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4) en una misma reacción; siendo el serotipo DENV-2 el más asociado a Dengue grave.

2. Se encontró que la frecuencia del DENV-2 detectadas en el ARN de mosquitos colectados durante el año 2019 fue mayor que la del ARN de mosquitos del 2020, esta reducción en la frecuencia es debido a las intervenciones que el Ministerio de salud realiza como parte de la lucha antiepidémica a través del Manejo Integrado de Vectores (MIV), una vez establecida la Vigilancia Entomoviroológica en el país. En el 2019 se observó una amplia distribución del serotipo DENV-2 en cinco SILAIS, Nueva Segovia, Madriz, Las Minas, Zelaya Central y Managua, a diferencia del 2020 en la que solo dos SILAIS; Managua y Nueva Segovia, presentaron este serotipo, al evaluar el índice de infestación en los años de estudio se obtuvo que en año 2019 el MIR (Tasa mínima de infección) fue de 2,9 % y la del 2020 fue de 3.4%, ubicando a los vectores en el índice de infestación media, demostrando la competencia vectorial de los mosquitos.

3. Al comparar entre el serotipo DENV-2 encontrado en el mosquito *Aedes aegypti* con el serotipo DENV-2 de los pacientes reportados en los datos epidemiológicos durante los años 2019-2020 se observó que existe relación en ambos, por lo que la vigilancia Entomoviroológica se convierte en una herramienta esencial para la detección precoz de casos de Dengue y sus serotipos, manteniendo una vigilancia activa por la posible introducción de un serotipo diferente, de modo que se puedan tomar acciones anticipadas ante un brote de Dengue grave para reducir el impacto de enfermedad.

## **10. Recomendaciones**

### **1. A los SILAIS**

- Continuar informando sobre el proceso de capacitación a nivel regional en manejo entomoviroológico de dengue y otras arbovirosis, así como planificar el proceso nacional y subnacional de capacitación conjunta con manejo integrado de vectores y comunicación social.
- Fortalecer mediante capacitaciones continuas el personal en la recolección y preservación de las muestras para la colecta de mosquitos en campo.
- Promocionar campañas de limpiezas permanentes en los hogares, cauces y áreas verdes involucrando a todos los sectores sociales, empresas y red comunitaria.

### **2. Al Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR)**

- Realizar capacitaciones o actualizaciones y monitoreo de las mismas en conjunto con las Universidades del país con el fin dar continuidad a las actividades relacionadas con la vigilancia y control entomoviroológico del Dengue, al cumplir los lineamientos intensificando acciones de control vectorial.
- Continuar con la realización de este tipo de estudios Entomoviroológicos del Dengue con el fin de brindar información actualizada, del comportamiento, la dinámica de los Serotipos de la enfermedad y sus riesgos.

### **3. A la UNAN- MANAGUA**

- Realizar estudios basados en este ámbito con el fin de evaluar la eficacia de las mismas y su influencia dentro de la población fortaleciendo así medidas de prevención al promover prácticas tanto individuales como comunitarias.

## 12. Bibliografía

- Alves da Costa, C. Carvalho dos Santos, I. & Barbosa, M. (2009) *Detección y tipificación del virus de dengue en Aedes aegypti en ciudad de Manaus, estado de Amazonas*. Recuperado de: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003786822009000600013&lng=pt&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003786822009000600013&lng=pt&tlng=pt)
- Arredondo, J. (2016) *Arbovirus en Latinoamérica*. Recuperado de: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-23912016000200111](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-23912016000200111)
- Bacallao, G. (2013) *Dengue Revisión Bibliográfica* Recuperado de: <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/106>
- Betancourth, J. (2017) *Interacción de variables climáticas con el dengue y el Aedes aegypti* Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602017000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000100002)
- Cáceres, O. (2003). *Detección rápida de los serotipos del virus dengue en el mosquito Aedes aegypti*. Perú: Scielo. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1726-463420030008>
- Camacho, D., & Ferrer, E. (2012). *Epidemiología molecular de los virus Dengue*. Maracay : scielo. Recuperado de: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-46482012000100001](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482012000100001)
- CDC, (2019) *Ciclo de vida Aedes aegypti*. Recuperado de: [https://www.cdc.gov/zika/pdfs/FS\\_AedesLifeCycle-es-p.pdf](https://www.cdc.gov/zika/pdfs/FS_AedesLifeCycle-es-p.pdf)
- Flores, K., & Pulido, N. (2020). *Co-circulación viral de Dengue y Chikungunya en mosquitos Aedes aegypti infectados naturalmente en Venezuela*. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/346511675>

- García, S. (2011). *Identificación y análisis de las variantes genéticas del virus del dengue y su asociación en la dinámica de su transmisión*. Recuperado de: <http://eprints.uanl.mx/2418/1/1080223834.pdf>
- Girard, B. (2015) *Abordando la problemática del Dengue desde una perspectiva ambiental* Recuperado de: <https://worldwidescience.org/topicpages/a/al+dengue+una.html>
- Günther, J. (2008). *Detección y tipificación del virus del Dengue en el vector Aedes aegypti y en pacientes de regiones endémicas del estado de Oaxaca*. Recuperado de: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/605/Tesis%20Jeannette%20Gunther.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hernández, L. (2007) *Factores de riesgo a los que estuvieron expuestos los pacientes diagnosticados con dengue en el municipio de Estelí, Junio 2005 a Octubre del 2006* <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/3721/1/202405.pdf>
- Hidalgo, M. (2010). *Aislamiento y serotipificación de virus del dengue en mosquitos del genero Aedes para la vigilancia epidemiológica de la enfermedad*. México:Conacyt. Recuperado de: [http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/guia\\_colecta\\_entomologica\\_InDRE.pdf](http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/guia_colecta_entomologica_InDRE.pdf)
- Ibarra, C. (2013). *Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real*. México: Medigraphic. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2013/ir132d.pdf>
- Kourí, G. (1991). *Epidemia de Dengue en Nicaragua*. Recuperado de: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46651991000500005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651991000500005)
- Laredo, Tiscareño, Stephanie Viridiana, & Guo, Xianwu, & Bocanegra, García, Virgilio (2012). *Virus del dengue: estructura de serotipos y epidemiología molecular*. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=4419/441942927002>.

- López, O. (2017) *Dengue estudio clínico de 206 casos hospital de Cuilapa Santa Rosa del año 2010*. Recuperado de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05\\_10452.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_10452.pdf)
- Martínez, E. (2008). *Dengue, Cuba: Asociación Panamericana de Infectología*. Recuperado de: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-40142008000300004](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142008000300004)
- Martinez, M. (2013). *Caracterización de los asentamientos del Pacífico urbano de Nicaragua. Censo TECHO 2013*. León. Recuperado de: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/retrieve/7498>
- Martínez, M. (2019). *Lineamientos de Vigilancia por Laboratorio Dengue y otras arbovirosis. México: InDRE*. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/506677/Lineamientos\\_Dengue\\_Arb\\_V2\\_2019.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/506677/Lineamientos_Dengue_Arb_V2_2019.pdf)
- Márquez, M. (2019) *Interacción de variables climáticas con el dengue y el mosquito*  
Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602017000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000100002)
- OPS/OMS. (2009). *Técnicas de laboratorio para el diagnóstico y la caracterización de los virus del dengue en la Habana*. Recuperado de: [https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Protocolos\\_Dengue\\_IPK\\_2009\\_I.pdf](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Protocolos_Dengue_IPK_2009_I.pdf)
- OPS, (2016). *Guía de mensajes claves para dirigir a individuos y familias sobre la vigilancia y control del Aedes aegypti transmisor del dengue, chikungunya, zika y otras arbovirosis en las Américas*. Recuperado de: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-cha-mensajes-claves-control-aedes-aegypti.pdf>
- OPS/OMS. (2019). *Actualización Epidemiológica Dengue*. Recuperado de: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/2020-feb-7-phe-actualizacion-epi-dengue.pdf>

- OMS & OPS, (2013) *Guía de bolsillo diagnóstico y manejo clínico de dengue*. Recuperado de: <https://www.OMS.org/hq/dmdocuments/2016/2016-cha-mensajes-claves-control-aedes-aegypti>
- Olano, V., Romero, L., & Cabezas, L., (2017). *Detección del virus del dengue en larvas y pupas de Aedes aegypti recolectadas en áreas rurales del municipio de Anapoima, Cundinamarca, Colombia*. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v37s2/0120-4157-bio-37-s2-00193.pdf>
- Ortega, M. (2015) *Análisis sobre el dengue, su agente transmisor y estrategias de prevención y control*. Recuperado de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552015000200013](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552015000200013)
- Sánchez, (2013) *Identificación y Serotipificación del virus de Dengue. México*. Recuperado de: <https://dspace.itcolima.edu.mx/jspui/bitstream/123456789/628/1/reporte%20final%20de%20residencia.pdf>
- Solís, E. (2010). *Correlación cuantitativa de mosquitos positivos a dengue en relación con la población que desarrolla enfermedad en colima*. Recuperado de: <https://dspace.itcolima.edu.mx/bitstream/handle/123456789/628/reporte%20final%20de%20residencia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Treviño, S. & Mora, A. (2009). *Distribución geoespacial y detección del virus del dengue en mosquitos Aedes aegypti. México: Scielo*. Recuperado de: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342010000200004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342010000200004)
- Úrbe, R. (2013) *Modelo del efecto del Dengue*. Recuperado de: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/download/1444/2172>

# **ANEXOS**



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN - MANAGUA



## FICHA DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN

### “INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD “LUÍS FELIPE MONCADA”

**Tema de investigación:** Dinámica de los serotipos del virus del Dengue detectados en el mosquito *Aedes aegypti* colectados para la vigilancia entomoviroológica molecular de los SILAIS de Nicaragua durante el período del año 2019-2020.

**Objetivo:** La siguiente ficha tiene la finalidad de recolectar la información para Detectar los serotipos del Virus del Dengue, determinar la frecuencia de los serotipos encontrados en mosquitos *Aedes aegypti* y compararlos con los serotipos reportados en pacientes durante el período 2019-2020

#### 1- Datos de colecta

SILAIS	Total de mosquitos Colectados en el año	SILAIS	Total de mosquitos Colectados en el año
CHI	<input type="text"/>	JI	<input type="text"/>
NS	<input type="text"/>	MT	<input type="text"/>
MA	<input type="text"/>	CHO	<input type="text"/>
GR	<input type="text"/>	BO	<input type="text"/>
MY	<input type="text"/>	ZC	<input type="text"/>
LE	<input type="text"/>	RACCS	<input type="text"/>
MGA	<input type="text"/>	BW	<input type="text"/>
RI	<input type="text"/>	LMI	<input type="text"/>
CA	<input type="text"/>	RSJ	<input type="text"/>
ES	<input type="text"/>		

## 2- Resultados

SILAIS	Dengue		Serotipos							
CHI	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
NS	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
MA	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
GR	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
MY	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
LE	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
MGA	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
RI	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
CA	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
ES	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
JI	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
MT	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
CHO	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
BO	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
ZE	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
RACCS	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
BW	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
LMI	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>
RSJ	Pos <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	DENV: 1	<input type="checkbox"/>	2	<input type="checkbox"/>	3	<input type="checkbox"/>	4	<input type="checkbox"/>

### 3- Resultados reportados en pacientes por año

SILAIS	Casos confirmados	Serotipos
CHI	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
NS	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
MA	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
GR	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
MY	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
LE	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
MGA	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
RI	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
CA	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
ES	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
JI	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
MT	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
CHO	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
BO	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
ZE	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
RACCS	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
BW	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
LMI	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>
RSJ	<input type="text"/>	DENV: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/>

<b>DENV-1</b>	I	Sudeste Asiático, China, Este de África
	II	Tailandia
	III	Cepas Selváticas aisladas en Malasia
	IV	Islas del oeste del Pacífico y Australia
	V	América, Oeste de África y algunas Asiáticas
<b>DENV-2</b>	Americano	América Latina, Caribe, India e islas del Pacífico
	Asiático 1	Malasia y Tailandia
	Asiático 2	Vietnam, China, Taiwan, Sri Lanka y Filipinas
	Americano/Asiático	Tailandia, Vietnam, América
	Cosmopolita	Amplia distribución
<b>DENV-3</b>	I	Indonesia, Malasia, Caribe, India e Islas del Pacífico
	II	Tailandia, Vietnam, Bangladesh
	III	Sri Lanka, África, India, Samoa
	IV	Puerto Rico, América central, América Latina, Tahití
<b>DENV-4</b>	I	Tailandia, Sri Lanka, Filipinas, Japón
	II	Indonesia, Malasia, Tahití, Caribe, América
	III	Tailandia
	IV	Selváticas

Figura 6: Clasificación de los serotipos del virus del dengue

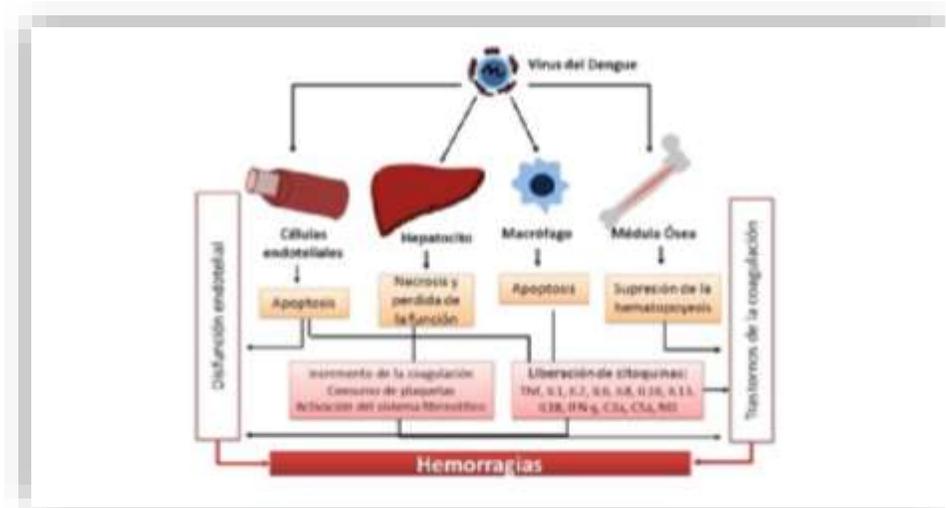


Figura 7: Fisiopatología

## Clasificación modificada de la gravedad del dengue, OPS/OMS

Dengue sin signos de alarma - DSSA	Dengue con signos de alarma - DCSA	Dengue grave - DG
<p>Persona que vive o ha viajado en los últimos 14 días a zonas con transmisión de dengue y presenta fiebre habitualmente de 2 a 7 días de evolución y 2 o más de las siguientes manifestaciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Náuseas / vómitos</li> <li>2. Exantema</li> <li>3. Cefalea / dolor retroorbitario</li> <li>4. Mialgia / artralgia</li> <li>5. Petequias o prueba del torniquete (+)</li> <li>6. Leucopenia</li> </ol> <p>También puede considerarse caso todo niño proveniente o residente en zona con transmisión de dengue, con cuadro febril agudo, usualmente entre 2 a 7 días y sin foco aparente.</p>	<p>Todo caso de dengue que cerca de y preferentemente a la caída de la fiebre presenta uno o más de los siguientes signos:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dolor abdominal intenso o dolor a la palpación del abdomen</li> <li>2. Vómitos persistentes</li> <li>3. Acumulación de líquidos (ascitis, derrame pleural, derrame pericárdico)</li> <li>4. Sangrado de mucosas</li> <li>5. Letargo / irritabilidad</li> <li>6. Hipotensión postural (lipotimia)</li> <li>7. Hepatomegalia &gt;2 cm</li> <li>8. Aumento progresivo del hematocrito</li> </ol>	<p>Todo caso de dengue que tiene una o más de las siguientes manifestaciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Choque o dificultad respiratoria debido a extravasación grave de plasma. Choque evidenciado por: pulso débil o indetectable, taquicardia, extremidades frías y llenado capilar &gt;2 segundos, presión de pulso <math>\leq 20</math> mmHg; hipotensión en fase tardía.</li> <li>2. Sangrado grave: según la evaluación del médico tratante (ejemplo: hematemesis, melena, metrorragia voluminosa, sangrado del sistema nervioso central (SNC))</li> <li>3. Compromiso grave de órganos, como daño hepático (AST o ALT <math>\geq 1000</math> UI), SNC (alteración de conciencia), corazón (miocarditis) u otros órganos</li> </ol>
<p>Requieren observación estricta e intervención médica inmediata</p>		

**Figura 8: Clasificación del Virus del Dengue**

### Procedure QIAamp® Viral RNA:

- 1- Pipet 560  $\mu$ l of prepared Buffer AVL containing carrier RNA into a 1.5 ml microcentrifuge tube. If the sample volume is larger than 140  $\mu$ l, increase the amount of Buffer AVL-carrier RNA proportionally.
- 2- Add 140  $\mu$ l of the sample to the Buffer AVL-carrier RNA in the microcentrifuge tube. Mix by pulse-vortexing for 15 s.
- 3- Incubate at room temperature (15–25°C) for 10 min. Viral particle lysis is complete after lysis for 10 min at room temperature. Longer incubation times have no effect on the yield or quality of the purified RNA. Potentially infectious agents and RNases are inactivated in Buffer AVL.
- 4- Briefly centrifuge the tube to remove drops from the inside of the lid.
- 5- Add 560  $\mu$ l of ethanol (96–100%) to the sample, and mix by pulse-vortexing for 15 s. After mixing, briefly centrifuge the tube to remove drops from inside the lid. Only ethanol should be used since other alcohols may result in reduced RNA yield and purity.
- 6- Carefully apply 630  $\mu$ l of the solution from step 5 to the QIAamp Mini column (in a 2 ml collection tube) without wetting the rim. Close the cap, and centrifuge (8000 rpm) for 1 min. Place the QIAamp Mini column into a clean 2 ml collection tube, and discard the tube containing the filtrate. Close each spin column to avoid cross-contamination during centrifugation.
- 7- Carefully open the QIAamp Mini column, and repeat step 6. If the sample volume was greater than 140  $\mu$ l, repeat this step until all of the lysate has been loaded onto the spin column.
- 8- Carefully open the QIAamp Mini column, and add 500  $\mu$ l of Buffer AW1. Close the cap, and centrifuge (8000 rpm) for 1 min. Place the QIAamp Mini column in a clean 2 ml collection tube (provided), and discard the tube containing the filtrate.
- 9- Carefully open the QIAamp Mini column, and add 500  $\mu$ l of Buffer AW2. Close the cap and centrifuge at full speed (20,000 x g; 14,000 rpm) for 3 min. Continue directly with step 11, or to eliminate any chance of possible Buffer AW2 carryover, perform step 10, and then continue with step 11.
- 10- Recommended: Place the QIAamp Mini column in a new 2 ml collection tube (not provided), and discard the old collection tube with the filtrate. Centrifuge at full speed for 1 min.
- 11- Place the QIAamp Mini column in a clean 1.5 ml microcentrifuge tube (not provided). Discard the old collection tube containing the filtrate. Carefully open the QIAamp Mini column and add 60  $\mu$ l of Buffer AVE equilibrated to room temperature. Close the cap, and incubate at room temperature for 1 min. Centrifuge (8000 rpm) for 1 min.

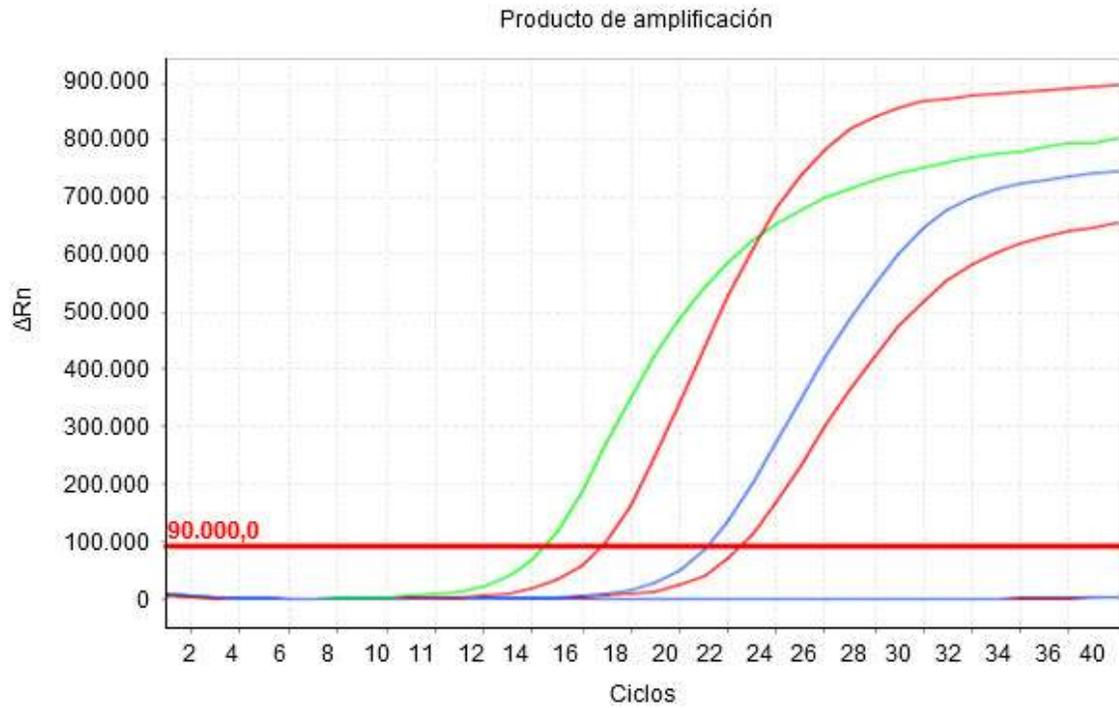
### Figura 9: Protocolo de Extracción de ARN kit Qiagen

Datos pacientes		
<b>SILAIS</b>	<b>Serotipos DENV-2 2019</b>	<b>Serotipos DENV-2 2020</b>
MGA	2126	58
ES	611	17
LE	518	67
CHI	388	10
MY	295	5
JI	273	15
RACCS	183	44
RI	119	11
MT	116	6
RSJ	107	21
BW	98	22
MA	55	4
CA	45	5
CHO	43	16
NS	41	6
BO	39	10
LMI	33	4
GR	18	28
ZE	16	3
<b>TOTAL</b>	<b>5124</b>	<b>352</b>

**Tabla 3. Serotipos reportados en pacientes año 2019 -2020**

Mosquitos		
<b>SILAIS</b>	<b>Serotipos DENV-2 /2019</b>	<b>Serotipos DENV-2/ 2020</b>
NS	40	20
MA	35	0
ZE	2	0
LMI	3	0
DIV	0	38
DVI	80	0
DVII	20	15
<b>TOTAL</b>	<b>180</b>	<b>73</b>

**Tabla 4. Serotipos detectados en ARN de mosquitos *Aedes aegypti* en el año 2019 – 2020**



**Figura 10. Gráfico de amplificación de controles para tipificación del DENV**

**DENV-1: FAM/ Verde**

**DENV-2: VIC/ Rojo**

**DENV-3: Texas Red/ Azul**

**DENV-4: CY5 / Anaranjado**

## **GLOSARIO**

### **A:**

ADN: Ácido desoxirribonucleico consiste en dos cadenas que se enrollan entre ellas para formar una estructura de doble hélice. Cada cadena tiene una parte central formada por azúcares (desoxirribosa) y grupos fosfatos.

ARN: Es una molécula similar a la del ADN, pero es de cadena sencilla. Una hebra de ARN tiene un eje constituido por un azúcar (ribosa) y grupos de fosfatos de forma alterna, unidos a cada azúcar se encuentra una de las cuatro bases Adenina, uracilo, citosina, guanina.

ADNoteca: Lugar de almacenamiento de muestras de ARN de mosquitos.

Anofelinos: Son todos los mosquitos que pertenecen al género anofeles, logrando diferenciar de otros mosquitos por medio de sus palpos o escamas encima de sus alas.

### **C:**

Citoquinas: Son proteínas capaces de coordinar la respuesta del sistema inmunológico

### **D:**

DENV: El virus del dengue es el agente causal dengue; siendo la principal enfermedad viral transmitida por artrópodos en el mundo.

### **E:**

Entomoviroológico: Consiste en la búsqueda y captura de adultos del género Aedes en localidades endémicas y no endémicas de dengue

Esteatosis: La enfermedad por hígado graso que puede causar cirrosis o cáncer de hígado.

### **G:**

Gonotróficos: La ingestión de sangre y desarrollo de huevos en mosquitos es un proceso cíclico que implica la alternancia de periodos de crecimiento

### **H:**

Hiperendémica: Relativo a una enfermedad que es endémica en grado superior a lo normal.

**Heterólogo:** Todo lo derivado o procedente de una especie distintas de la especie de referencia ejemplo ADN.

**Hepatomegalias:** Es la inflamación del hígado más allá de su tamaño normal.

**O:**

**Oviposición:** Es un órgano usado por las hembras de muchos insectos para depositar huevos

**P:**

**Palpos:** Apéndices articulados sensoriales que tienen los insectos alrededor de la boca para palpar y sujetar lo que comen.

**Plasminógeno:** Es una proteína proteolítica implicada en disolución de coágulos de sangre

**Pools:** Es la agrupación que se le denomina a un número determinado de muestra según dé lugar de origen ejemplo un número determinado de mosquito según lugar de procedencia o manzana.

**Poiquiloterms:** Son los organismos llamados ectotérmicos o “de sangre fría”, que no pueden regular significativamente su temperatura corporal.

**T:**

**Tegumentos:** Tejido orgánico que cubre alguno de los órganos internos.

**V:**

**Vasoconstricción:** Es un estado de contracción de la túnica media de los vasos sanguíneos



**Figura 11. Cuarto Blanco preparación de la master mix y placa para la PCR**



**Figura: 12 y 13. Cuarto Gris, Agregar muestras y controles**



**Figura 14. Cuarto Negro, Análisis de los resultados**



**Figura 15. Equipo de trabajo**