

## CASO CLÍNICO N°1

1. Paciente embarazada de la localidad de Charata (provincia del Chaco) que consulta al médico por tener fiebre alta (39°C) desde hace 2 días, dolores musculares y en las articulaciones, y dolores de cabeza de tipo retro-orbital.

a. ¿Qué diagnóstico sospecha ante estos síntomas clínicos?

La clínica y la epidemiología, hacen sospechar infección por virus Dengue.

b. ¿Qué respuesta inmune desarrollaría la mujer suponiendo que la infección por virus Dengue es producida al haberse expuesto por primera vez frente al serotipo DEN-1?

En líneas generales podemos decir que en la infección primaria por virus dengue a través de uno de los cuatro serotipos, se desencadena una respuesta inmune dirigida a eliminar el virus, con la consiguiente recuperación del paciente. El serotipo infectante produce anticuerpos homólogos o específicos de por vida.

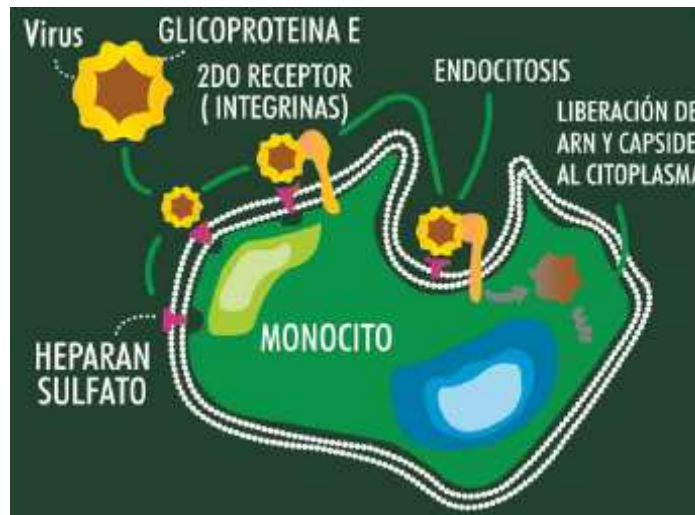
En caso de que se produzca reinfección con el mismo serotipo de virus dengue, la respuesta de memoria del huésped elimina el virus antes de que se produzca la enfermedad. Por lo tanto, la respuesta inmune generada es protectora para el individuo y evita la reinfección por el mismo serotipo.

### ¿Qué ocurre en un primer contacto y cómo entra el virus a las células?

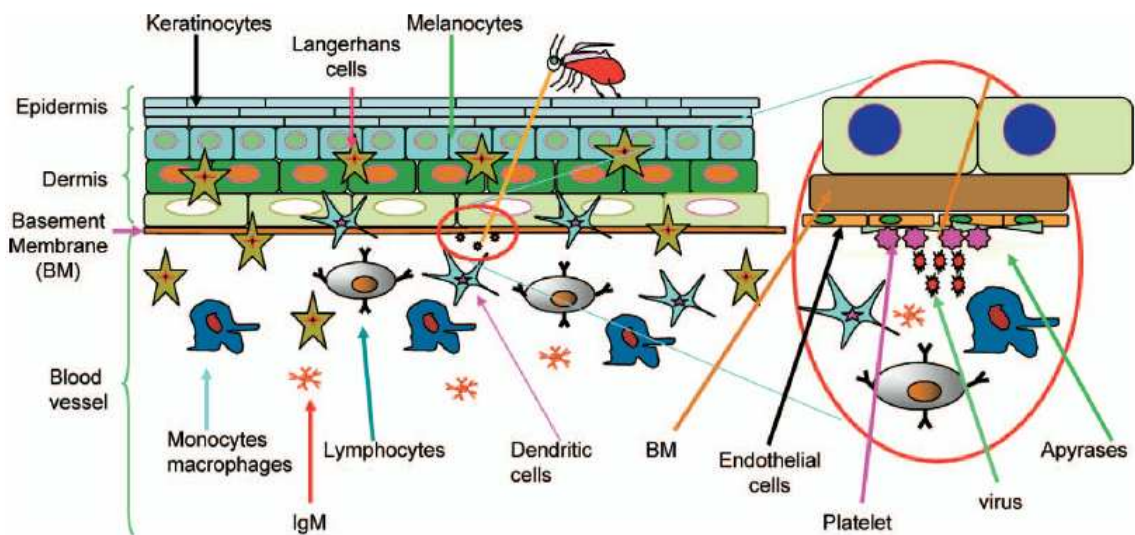
Como ocurre con otros virus, el primer paso en la infección por dengue requiere la interacción entre la partícula viral y el complejo receptor presente en la superficie de la célula huésped. La glicoproteína E es la proteína viral más expuesta y ella interacciona con el complejo receptor a través de su dominio III localizado hacia el extremo carboxiterminal de la proteína.

Respecto al receptor celular, diversos grupos han dirigido sus esfuerzos para su identificación y han descrito moléculas como el glicosaminoglicano heparán sulfato (HS), al cual se une el virus a través de la interacción con la proteína E. Dado que el HS está presente en una gran diversidad de células, su interacción con el virus permite la adsorción viral a la superficie de distintos tipos celulares. En el caso específico de células dendríticas (CD), que están presentes en la piel del huésped humano y que son de las primeras que se infectan con dengue, la unión ocurre entre la lectina de unión a ICAM3, DC-SIGN o CD209, y los residuos de manosa de la Asn 67 de la proteína E. DC-SIGN también permite la unión de las CD con otros virus como HIV, HCV, ebola y CMV.

Por otro lado, se han identificado al receptor de alta afinidad de laminina de 37/67 kDa y a la proteína GRP78 como moléculas receptoras para DEN-1 y 2 respectivamente en células hepáticas Hep G2. GRP78 o Bip es una molécula muy importante en la respuesta a estrés celular, sobre todo el relacionado con el retículo endoplasmático.



Poco después de la picadura del mosquito, el virus dengue contacta y penetra en la CD de la epidermis o células de Langerhans (tipo representativo de CD inmadura ubicada en la epidermis). Las CD son las primeras células diana en la infección natural por los virus del dengue. En su interior se producen partículas virales (vesículas, vacuolas), hipertrofia del retículo endoplasmático y aumento del tamaño de la mitocondria. El virus dengue conduce a la maduración y activación de las CD, la expresión de moléculas de clase II del sistema HLA, otras moléculas co-estimuladoras y producción de citoquinas como FNT-alfa e INF-alfa. Esto ocurre no sólo en las células infectadas, sino también en las que la rodean. La presencia o ausencia relativa de IFN en el microambiente celular modula la intensidad de la inmunidad celular.



### ¿Cómo sigue la respuesta?

Mientras las CD se han ido desplazando hacia los ganglios linfáticos donde ocurre el contacto con los linfocitos T (LT), los virus que han penetrado la dermis son reconocidos por los macrófagos allí existentes, así como por las células del endotelio vascular.

La respuesta inmune a los antígenos virales es en gran medida dependiente de los LT, los que se requieren tanto para algunas reacciones citotóxicas como para la liberación de citoquinas, entre ellas la IL-2. Esta citoquina aumenta la proliferación y actividad de LT citotóxicos y de células NK y la secreción del INF-gamma, cuyos efectos antivirales son conocidos: la inhibición directa de la replicación viral, la estimulación de células con capacidad para eliminar células infectadas por virus, en particular las células NK y los macrófagos, y el incremento de las glicoproteínas del MHC clase 1 y clase 2 en células presentadoras de antígenos (CPA), para facilitar de esta forma el reconocimiento de antígenos virales.

La capacidad de un individuo de producir una respuesta dada, siguiendo una estimulación antigénica, está determinada genéticamente. Los genes de la respuesta inmune, en asociación con el MHC, restringen la especificidad de la respuesta de LT a un antígeno determinado.

Los LT CD4+ son los primeros que se activan, con producción de INF-gamma e IL-2, que conduce a su activación y proliferación mediante estimulación autocrina y paracrina. La activación de los LT CD8+ ocurre posteriormente.

Estudios de la respuesta de LT CD8+ restringida por MHC clase 1 y CD4+ restringida por MHC clase 2 a flavivirus encefalíticos demostraron que los péptidos derivados de las proteínas citosólicas virales estimulan los LT restringidos por MHC clase 1, mientras que los péptidos derivados de las proteínas asociadas a membranas y las proteínas estructurales son presentados por moléculas MHC clase 2.

Durante la infección por algunos flavivirus, en particular los flavivirus encefalíticos y el dengue, la respuesta de los LT podría ser responsable de efectos perjudiciales, en mayor medida que de efectos beneficiosos y protectores.

Estudios realizados por Peter G. Livingston y colaboradores analizan los LT CD8+ específicos al virus, para entender su papel en el restablecimiento de la infección y en la patogénesis de la Fiebre Hemorrágica/Síndrome de Choque por Dengue (FHD/SCD). Se vio que niveles sanguíneos de IL-2 y moléculas CD4+ y CD8+ solubles son significativamente más altos en pacientes con FHD/SCD que en pacientes con Fiebre por Dengue (FD), lo que sugiere que los LT CD4+ y CD8+ son muy activos, y con su reactividad cruzada pueden contribuir a la patogénesis de la FHD/SCD. Se han constatado además altos niveles de citoquinas proinflamatorias: IL-6, FNT e INF-alfa en sueros de pacientes con FHD/SCD con respecto a los de pacientes con FD. Se plantea que los mediadores lipídicos podrían estar involucrados en la patogénesis de FHD/SCD. Tal es el caso del PAF, que puede afectar la agregación plaquetaria, y citoquinas como el FNT-alfa y la IL-1beta, que contribuyen al choque séptico.

Los LT CD4+ de reactividad cruzada con patrón de citoquinas Th1, proliferan y producen niveles elevados de IFN-gamma e IL-2 tras la infección

secundaria con un serotipo del virus del dengue. La producción de IFN-gamma parece contribuir a la patogénesis de la FHD/SCD por:

- ✗ Aumento del número de receptores Fc gamma y subsecuentemente del número de células diana infectadas por el virus, al aumentar la captura de complejos anticuerpos-virus dengue por estos receptores.

- ✗ Inducción de la expresión MHC clase I y II en las células infectadas, lo cual facilita el reconocimiento de los antígenos virales por las células citotóxicas del sistema inmune.

- ✗ Estimulación de la producción de mediadores inflamatorios por las células monocíticas infectadas: IL-1, FNT-alfa, prostaglandinas de la serie E y leucotrienos como el LTB<sub>4</sub>, los cuales aumentan la adherencia del monocito al endotelio, y junto a componentes resultantes de la activación del complemento, conducen a una función alterada de las células endoteliales vasculares, llevando a la exudación de plasma al espacio intersticial, la hipovolemia y el choque.

La IL-2, por su parte, en títulos altos produce la extravasación de plasma, pudiendo ser este uno de los mecanismos del cuadro inmunopatológico.

Los monocitos infectados son lisados por los LT CD4<sup>+</sup> y TCD8<sup>+</sup> de reactividad cruzada. La lisis de estas células, por los LT citotóxicos o por el efecto citopático del virus, libera los mediadores inflamatorios contenido en ellas, como proteasas, hidrolasas, FNT, IL-1 y 6, prostanglandinas y leucotrienos.

La acción citotóxica de los LT CD4<sup>+</sup> podría estar facilitada por las concentraciones elevadas del antígeno MHC clase II expresado por estas células, ya sea por el efecto del IFN-gamma o por la inducción de la expresión de MHC clase I y II causada por la propia infección viral.

Esto podría considerarse, desde un punto de vista simplista, a favor del sistema inmune del huésped, al facilitar el reconocimiento y la lisis de las células infectadas. Sin embargo, la expresión aumentada de MHC clase I en estas células reduce su susceptibilidad a la lisis mediada por células NK, posibilitando el escape del virus de esta respuesta inmune temprana no específica en la defensa del organismo contra la infección viral. Si la lisis ocurre tras el ensamblaje del virus, la liberación de la progenie viral infectante aumentaría el número de células monocíticas infectadas, utilizando de esta forma el virus la respuesta citolítica inmune para su liberación tras su maduración en la célula infectada. Estos dos últimos hechos pudieran constituir nuevos mecanismos de escape del virus a la respuesta del huésped.

## **Inmunidad Humoral**

Los anticuerpos antiviral median tres funciones fundamentales en la eliminación de las partículas virales infectantes: la neutralización del virus, la histólisis mediada por el complemento y la citotoxicidad celular dependiente de

anticuerpos. Los LB, en la medida que se activan y proliferan, son capaces de capturar y procesar antígenos virales para presentarlos a las células Th, incrementando el número de estas células activadas.

Se ha planteado que la respuesta inmune humoral a una infección primaria por determinado serotipo, origina anticuerpos neutralizantes para virus homólogos capaces de proteger al individuo a largo plazo; pero origina igualmente anticuerpos neutralizantes heterólogos de corta duración, responsables del efecto de amplificación dependiente de anticuerpos (ADA). Los complejos de anticuerpos subneutralizantes-virus, formados en respuesta a la infección, se unen a los receptores Fc presentes en la superficie de las células de la línea fagocítica mononuclear, dianas naturales de la infección por este virus. En el caso de recién nacidos de madres inmunes, es el resultado de la transferencia pasiva de los anticuerpos maternos.

El fenómeno ADA es un fenómeno serológico *in vitro* o un grupo de fenómenos donde la infección viral de células susceptibles es modificada por la adición de anticuerpos reactivos al virus, y puede estar relacionada con los procesos inmunopatológicos que ocurren *in vivo*, incluyendo el SCD.

ADA, basado en observaciones epidemiológicas de fenómenos tempranos descritos para la rabia y otras infecciones virales, se asocia con infecciones preexistentes. En estos fenómenos, los animales con inmunidad preexistente mueren primero que aquéllos que no la poseen. Este hecho de muerte temprana parece estar asociado no sólo con la exposición a un tipo de virus después de la vacunación, sino también con la presencia de anticuerpos adquiridos pasivamente.

Este fenómeno de amplificación se observa con anticuerpos IgG de las subclases IgG1 e IgG3. Los anticuerpos de tipo IgM son muy eficientes para la neutralización de los virus dengue, pero a altas diluciones, y en presencia de complemento, pueden mediar el fenómeno de inmunoamplificación. La incubación de monocitos con inmunoglobulinas antes de la infección con el complejo virus-anticuerpo inhibe la amplificación de la infección por anticuerpos contra el virus dengue. Por otra parte, los anticuerpos monoclonales contra el receptor Fc gamma inhibe la inmunoamplificación para otros flavivirus, lo que nos indica que la porción Fc de los anticuerpos de tipo IgG anti-dengue y el receptor Fc gamma en las células son necesarios para que ocurra el fenómeno. El fenómeno resulta entonces por la interacción de tres componentes: el virus dengue, los anticuerpos de tipo IgG y el receptor Fc gamma.

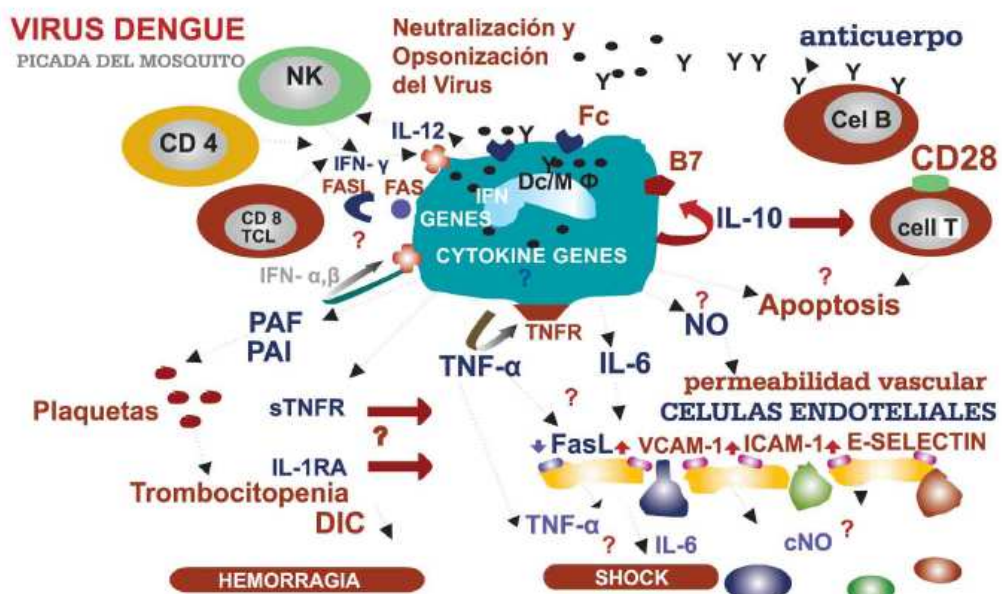
ADA se observa lo mismo si se usan anticuerpos monoclonales que si se usan anticuerpos policlonales. Los anticuerpos monoclonales que reconocen epitopes presentes en las proteínas E y prM pueden producir amplificación, y a los epitopes reconocidos se les ha llamado epitopes amplificadores. Estos pueden ser: específicos de serotipo, de reacción cruzada con serotipos del virus del dengue o de reacción cruzada con otros flavivirus. Esto indica que existen epitopes amplificadores específicos de especie, específicos de serotipo, específicos



del complejo dengue, específicos de serotipos de dengue con reacción cruzada y de flavivirus con reacción cruzada.

Mediante anticuerpos monoclonales se ha estudiado la relación entre los epitopes amplificadores y los epitopes neutralizantes y se ha observado que estos anticuerpos pueden ser de tres tipos: los anticuerpos monoclonales que neutralizan y amplifican, los anticuerpos monoclonales que no neutralizan pero amplifican y los anticuerpos monoclonales que neutralizan y no amplifican. Se puede entonces concluir que muchos epitopes amplificadores también pueden ser neutralizantes y otros no. ADA se observa generalmente en altas diluciones de suero para las cuales los anticuerpos pierden su capacidad neutralizante. Los inmunocomplejos de anticuerpos en concentraciones subneutralizantes-virus, formados en respuesta a la infección son captados por los receptores Fc, I y II presentes en la superficie de las células de la línea fagocítica mononuclear, tales como las células de Kupffer, los macrófagos pulmonares y las células mononucleares de la sangre y la piel, dianas naturales de la infección por este virus. Este fenómeno se incrementa en presencia de IFN-gamma por un aumento inducido de la expresión de los receptores Fc. Los anticuerpos heterotípicos, circulantes en sangre al comienzo de la infección por dengue, forman inmunocomplejos infectantes que amplifican la eficiencia de entrada de los virus a las células diana. En ausencia de los anticuerpos amplificadores de la infección, la piel puede ser el principal sitio de replicación viral.

Durante la infección secundaria amplificada por anticuerpos subneutralizantes, las células infectadas se distribuyen ampliamente por los tejidos internos. En estas condiciones, como posible mecanismo involucrado en el desencadenamiento de la forma grave de la enfermedad, está el hecho de que factores flogísticos o metabolitos intracelulares pueden ser liberados al medio extracelular como resultado de la lisis de células mononucleares infectadas que se debe al efecto citopático del virus o a la interacción de estas células con mecanismos efectores del sistema inmune.



c. ¿Qué respuesta desarrollaría si fuese picada nuevamente por el vector transmisor (*Aedes aegypti*) infectándose con el serotipo DEN-3? ¿Qué manifestaciones clínicas y de laboratorio veríamos en esta infección secundaria?

La infección secuencial que explica el desarrollo de FHD/SCD por el Dr. Scott Halstead, describe que si un caso ha sido infectado en una primera infección por un serotipo, especialmente el DEN-1, queda protegido contra ese serotipo, pero no contra los otros serotipos, y al contrario, en una infección secundaria o terciaria los anticuerpos de la primera infección, facilitan la penetración de estos segundos virus infectantes hacia los monocitos, donde se multiplicarán en gran cantidad, empobreciendo la membrana celular, lo que ocasiona salida de sustancias vasoactivas como: bradiquinina, histamina, sustancias activadoras del complemento, citoquinas y otras, que llevan al aumento de la fragilidad capilar y por ende, esto ocasiona salida del plasma del espacio intravascular al extravascular, produciéndose de esta manera los derrames pleurales, abdominales, articulares, y en cualquier otro espacio del organismo. Esto lleva a la depleción de volumen sanguíneo y como consecuencia se desarrolla el SCD. También se activan las sustancias que estimulan la aparición de la coagulación intravascular diseminada (CID) lo que agrava el síndrome de choque.

Vemos entonces como la respuesta inmune a la infección por los virus del dengue puede estar asociada tanto a la prevención y recuperación como a la inmunopatología de FHD/SCD. Como ya hemos explicado, la infección con un serotipo de dengue brinda inmunidad homóloga de larga duración, pero solamente hay protección cruzada transitoria contra el resto de los serotipos, por lo que el individuo que se infectó primariamente en breve será susceptible a una infección secundaria por otro serotipo. Se ha comprobado que el desarrollo de la forma severa de la enfermedad, en un alto porcentaje de los casos, está relacionada con la presencia de anticuerpos heterotípicos debido a una infección anterior, de esta manera se han encontrado niños pequeños con anticuerpos maternos que han desarrollado FHD. Sin embargo, esto no es una regla, ya que la FHD se presenta aunque en un porcentaje menor, en pacientes con infección primaria. Por otra parte, de los pacientes que sufren una infección secundaria solamente una fracción relativamente pequeña (2-6 %) desarrolla FHD.

La infección primaria por un serotipo determinado, origina anticuerpos capaces de neutralizar a los virus homólogos y por tanto deben proteger al individuo a largo plazo; pero igualmente origina anticuerpos neutralizantes heterólogos de corta duración, responsables del efecto de ADA.

Los anticuerpos son considerados el mecanismo más importante de protección en la infección por los virus del dengue; no obstante el cambio de los isotipos y el desarrollo de células de memoria son eventos dependientes de LT. Ante la infección primaria con un serotipo de los virus del dengue se genera un patrón linfocitario heterogéneo en el que se encuentran tanto los linfocitos T de memoria serotipo-específicos como los de reactividad cruzada. Ambos linfocitos

juegan un papel importante en el desarrollo de la FHD/SCD y en la inmunopatogénesis de la enfermedad.

Se ha observado que la respuesta es mayor contra el serotipo homólogo; sin embargo, después de una infección secundaria con uno de los virus del dengue los LT de memoria inducidos por la infección primaria muestran reactividad cruzada y proliferan rápidamente.

Los LT CD4+ y CD8+ de memoria son muy activos y de reactividad cruzada pudiendo contribuir con la patogénesis de la FHD/SCD. El desarrollo de anticuerpos que tienen reacción cruzada con el plasminógeno (debido a la similitud en una secuencia de 20 aminoácidos con la glicoproteína E del DEN y una familia de factores coagulantes), pueden tener relación con la causa de hemorragia en la FHD.

Una mayor destrucción de las plaquetas o una disminución en su producción pudieran ser la causa de la trombocitopenia. En este sentido, se ha detectado la presencia de complejos virus-anticuerpos en la superficie de las plaquetas de pacientes con FHD, lo que sugiere que la respuesta inmune desempeña algún papel en la destrucción de las plaquetas. En este sentido, se ha encontrado la presencia de anticuerpos IgM de reactividad cruzada contra las plaquetas en los sueros de pacientes con FHD que podrían causar lisis de estas y por tanto estar involucrados en la patogénesis de la enfermedad.

La activación del complemento también pudiera estar involucrada en la patogénesis de la filtración capilar en la FHD. La cascada del complemento podría ser activada por los complejos inmunes formados por los virus circulantes y los anticuerpos específicos contra estos.

Otros autores han considerado que las formas graves de la enfermedad son el resultado de la infección por cepas muy virulentas de los virus del dengue. Tales cepas podrían ser originadas en circunstancias de hiperendemicidad y circulación concomitante de múltiples serotipos virales y presentar mutaciones producto de sucesivas replicaciones en hospederos filogenéticamente tan distintos, como hombre y artrópodo. Según esta hipótesis no sería necesaria una infección previa para desarrollar FHD/SCD. En tal sentido existen ejemplos, aunque escasos, de epidemias severas ocurridas en poblaciones primoinfectadas. Ciertamente, existen algunas evidencias que apuntan hacia la existencia de cepas con mayor o menor potencial virulento. Un ejemplo es la cepa DEN-2 (Genotipo Americano) que provocó la epidemia de Iquitos, Perú en 1995 en una población inmune a DEN-1 y no se reportó un solo caso de FHD. Por el contrario la epidemia Cubana de 1981, provocada igualmente por una cepa de DEN-2, pero Genotipo Asiático, en el mismo contexto inmunológico (personas inmunes a DEN-1) ocasionó una epidemia extremadamente severa.

Otros estudios recientes sugieren que hay diferencias en la habilidad de algunas cepas virales para unirse e infectar células diana y en su capacidad para generar una mayor progenie viral in vitro. Por otra parte, una mayor carga viral



en las etapas iniciales de la infección viene aparejado con las formas más severas de la enfermedad, lo que podría estar dado por factores virales.

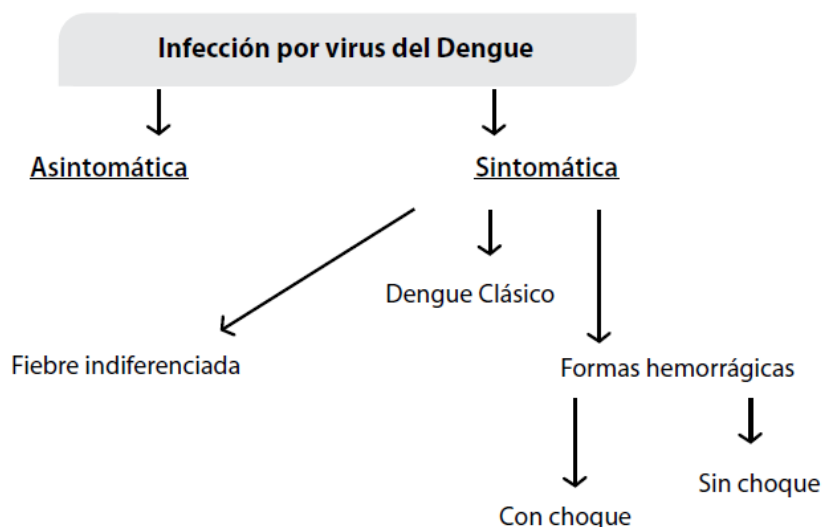
Estos resultados sugieren un papel esencial para la virulencia en la patogénesis de la FHD/SCD. Sin embargo, la falta de un modelo animal apropiado para reproducir la enfermedad del dengue ha dificultado un conocimiento más profundo de los efectos de la virulencia in vivo.

Poco se sabe aún acerca de qué tipo de hospedero y cuáles factores virus específicos, determinan por qué ciertos individuos solamente desarrollan FD mientras que otros FHD.

Los factores de riesgo individuales tales como el sexo, la raza, la edad, estado nutricional, genético, las enfermedades crónicas como asma, diabetes y anemia drepanocítica hacen la enfermedad más frecuente en ciertos grupos poblacionales.

### Características clínicas de la enfermedad

El dengue se manifiesta como una enfermedad infecciosa aguda, caracterizada por un amplio espectro de manifestaciones clínicas que oscilan desde formas leves de fiebre indiferenciada hasta formas graves con hemorragia y choque.



La **FD** se considera una enfermedad autolimitada y raramente fatal. La convalecencia puede prolongarse a varias semanas, asociándose a depresión y debilidad fundamentalmente en adultos, aunque no existen evidencias de secuelas permanentes posterior a la infección.

La FD se caracteriza por la presencia de fiebre alta de inicio abrupto, cefalea severa, dolor retro-orbital, mialgias, artralgias, náuseas y erupción. Clínicamente la enfermedad se manifiesta después de un período de incubación que oscila entre tres y siete días, al cabo de los cuales comienzan a evidenciarse los primeros síntomas. La fiebre entre 38 y 39°C se mantiene de dos a siete días,

desciende y reaparece. La erupción es variable y se presenta tempranamente en el 50 % de los pacientes, el enrojecimiento facial puede coincidir con la fiebre y desaparece generalmente entre el primero y el segundo día de instalado el signo.

Una segunda erupción comienza entre el segundo y sexto día, variando de la forma máculopapular a la escarlatiforme, distribuyéndose en el tronco, las extremidades y apareciendo en zonas en las que se alterna un patrón eritematoso con áreas de piel normal. **Las pruebas de laboratorio** muestran neutropenia con linfocitosis, en ocasiones linfocitos atípicos, las enzimas hepáticas pueden elevarse de forma ligera en algunos pacientes.

Aunque las manifestaciones hemorrágicas no son frecuentes, puede observarse sangramiento gingival, hematuria indicando la afectación del sistema genito-urinario e hipermenorrea por daño del sistema ginecológico así como lesiones petequiales y purpúricas en la piel; la trombocitopenia también ha sido reportada en algunos casos.

#### Dengue clásico: caso sospechoso

- **Síndrome febril**
  - fiebre de menos de 7 días y
  - sin afección de las vías aéreas superiores y
  - sin etiología definida y
  
- **Dos o mas de los siguientes síntomas:**
  - cefalea,
  - dolor retroorbitario,
  - mialgias/artralgias,
  - erupción cutánea,
  - manifestaciones hemorrágicas leves y
  
- **Que viva o haya viajado a**  
zona endémica de dengue o con transmisión activa de dengue  
o presencia de vector de dengue.

En la **FHD sin choque**, las manifestaciones clínicas son semejantes a las de la FD. La epigastralgia, la sensibilidad en el reborde costal derecho y el dolor abdominal son comunes. La temperatura es alta del segundo al séptimo día y posteriormente baja a nivel normal o subnormal, en ocasiones sube a 40°C o más y puede acompañarse de convulsiones febriles. La manifestación hemorrágica más común es una prueba del torniquete positiva. Un paciente es clasificado como caso de FHD sí, además de fiebre y hemorragia, presenta trombocitopenia (conteo plaquetario menor de 100.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>) y hemoconcentración (aumento del hematocrito en un 20 % ó más). Pueden observarse la presencia de ascitis y el derrame pleural, como signos de hemoconcentración.

En muchos casos se observan hemorragias en los sitios de venipunción. En la etapa inicial podemos ver petequias finas diseminadas por las extremidades, las axilas, la cara y el paladar blando. Puede verse erupción maculopapular al principio y al final de la enfermedad. Puede existir hepatomegalia de dos a cuatro centímetros, dolorosa a la palpación. La esplenomegalia es infrecuente en lactantes, pero a veces se observa un marcado aumento del bazo en la radiografía. Después de esta etapa viene la rápida recuperación que puede ser espontánea o seguida del tratamiento adecuado con fluidos (líquidos y electrolitos).

**Dengue hemorrágico: definición de caso\***

• Debe cumplir los siguientes 4 criterios:

1. Fiebre o antecedente reciente de fiebre

2. Manifestación hemorrágica evidenciada por al menos una de las siguientes:

- prueba del torniquete positiva
- petequias, equimosis o púrpuras
- hemorragia en mucosas, tracto gastrointestinal u otra

3. Trombocitopenia (100.000 x mm<sup>3</sup> o menos)

4. Aumento de la permeabilidad capilar manifestada por al menos uno de los siguientes signos:

- disminución de 20% o más del hematocrito luego de la hidratación
- Hematocrito igual o superior a 20% por encima del promedio para la edad y población que se considere
- signos asociados a extravasación de plasma: derrame pleural, ascitis o hipoproteinemia

*(\*) Definición de Caso Clínico de dengue hemorrágico de la OMS.*

En la **FHD/SCD** se produce un deterioro súbito del paciente luego de una fiebre de corta duración, la temperatura desciende y más tarde entre el tercero y el séptimo día aparecen los signos indicadores de la insuficiencia del sistema circulatorio, constatándose frialdad de la piel y congestión, es frecuente la cianosis peri-labial y el pulso débil pero acelerado. Los pacientes aunque letárgicos se muestran inquietos. Con la entrada al estado de choque crítico, la tensión arterial desciende (20 mmHg o inferior) la piel se nota fría y húmeda.

Los pacientes con FHD/SCD están en peligro de muerte, si no se les administra de inmediato el tratamiento adecuado. La mayoría de los casos se mantienen conscientes casi hasta la etapa final. La duración del choque es corta, el paciente puede morir de 12 a 24 horas o recuperarse con rapidez después del tratamiento. El choque no corregido puede llevar a la acidosis metabólica, hemorragia grave del aparato digestivo o cualquier otro órgano con un pronóstico desfavorable. En estos pacientes puede aparecer encefalopatía por alteraciones metabólicas y electrolíticas.

**Síndrome de choque por dengue: definición de caso\*\***

**Los 4 criterios de dengue hemorrágico más evidencia de falla circulatoria manifestada por:**

- Pulso rápido y débil
- Disminución de la presión del pulso (presión arterial diferencial de 20 mmHg o menos)
- Hipotensión arterial para la edad
- Extremidades frías
- Confusión mental

(\*) Definición de Caso Clínico de dengue hemorrágico de la OMS.

(\*\*) Definición de Caso Clínico de síndrome de Shock por dengue de la OMS.

La convalecencia en la FHD con o sin choque suele ser corta, aún en casos de choque profundo. Una vez corregido éste, los pacientes se recuperan entre 48 a 72 horas. En la convalecencia es común la bradicardia o las arritmias sinusales y una característica erupción petequial. En la FHD, el rango de síntomas neurológicos va desde irritabilidad y depresión hasta encefalitis y muerte.

La encefalopatía en la FHD puede resultar de la anoxia cerebral, edema, hemorragia intracraneal y oclusión de los vasos. Existe una controversia acerca de si los virus del dengue producen una enfermedad neurológica, como una complicación no específica o invaden directamente el cerebro de la misma forma que otros Flavivirus como la encefalitis Japonesa y la encefalitis de San Luis.

**Diagnóstico diferencial**

	Características
Rubéola	Febrícula, adenopatías. No aumenta hematocrito
Influenza	Congestión nasal, tos, lagrimas, faringitis, odinofagia. No aumenta hematocrito.
Malaria	Palidez, duración mayor de 7 días, antecedentes epidemiológico, escalofrío, sudoración, fiebre en la tarde, anemia
Leptospirosis	Ictericia, hemólisis, palidez. Anemia, aumento de la bilirrubina, enzimas hepáticas elevadas.
Fiebre amarilla	Ictericia, vómitos, náuseas, oliguria. Insuficiencia renal, aumento de bilirrubina sérica, albuminuria.
Hantavirus	Inhalación de aerosoles, de saliva y excretas de roedores contaminados

d. Los anticuerpos generados por la madre, ¿afectan al bebé y de qué manera?

La infección por dengue puede ocurrir transplacentariamente y se ha podido observar en infantes inmunizados pasivamente por madres que enfermaron al final del embarazo.

Una de las complicaciones que podrían presentarse en los lactantes es el desarrollo de FDH debido a la presencia de anticuerpos maternos heterotípicos transmitidos por vía transplacentaria y presentes durante el primer año de vida hasta llegar a niveles subneutralizantes.

Esto se explica por la infección facilitada, es decir, los niveles subneutralizantes del virus se fijan a los monocitos y facilitan la entrada de más virus con infección masiva de estas células al ocurrir la infección natural. Se postula que ocurre un periodo de viremia en útero y un periodo de ventana en el recién nacido, donde la seroconversión ocurre a partir del sexto día de nacido.

Se han notificado casos de transmisión vertical de infección por dengue durante brotes de la enfermedad, donde las madres se infectaban después de la semana 30 de gestación. Hay casos en que la infección materna era confirmada después del alumbramiento y retrasaba la atención oportuna del neonato. En otros casos, la confirmación serológica era antes del alumbramiento, lo que permitía que el neonato fuera vigilado y transfundido al presentarse la plaquetopenia.

En zonas endémicas de dengue, se debe tener presente la posibilidad de transmisión vertical, donde el riesgo de infección hemorrágica aumenta en el recién nacido. Los procedimientos quirúrgicos programados en pacientes con infección por dengue, pueden desencadenar trastornos hemorrágicos inducidos por el virus y difíciles de controlar. Deben investigarse antecedentes de fiebre preoperatoria y signos hematológicos compatibles con la infección, como trombocitopenia y linfocitosis atípica. Si la infección por dengue se sospecha, la cirugía electiva debe ser diferida; sin embargo, en caso de iniciarse el parto se deberá hacer una excepción y el recién nacido deberá ser monitoreado cuidadosamente.

2. Indique tipo de muestra, momento de recolección y tipo de análisis o metodología (métodos directos e indirectos) que utilizaría para el diagnóstico de virus dengue en el laboratorio.

### Diagnóstico de dengue

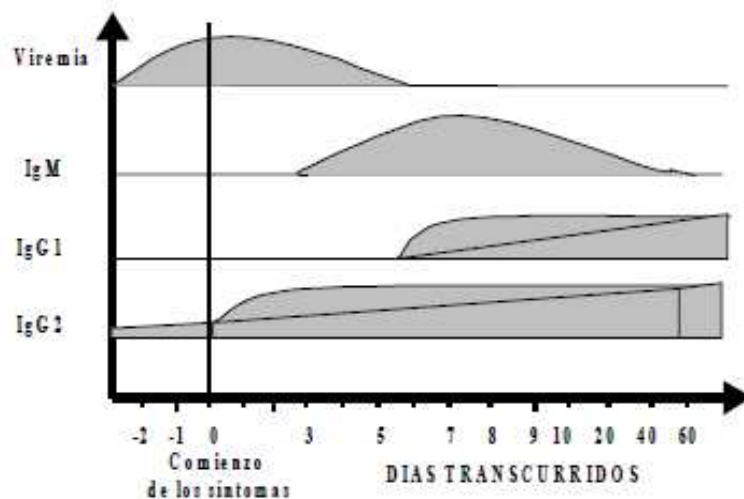
#### Muestras utilizadas en el diagnóstico

Para el *aislamiento del agente causal del dengue* se recomienda la toma de muestras de sangre durante el período febril y sobre todo antes del quinto día de comienzo de la enfermedad. En los casos fallecidos, se pueden utilizar muestras



frescas de tejidos (hígado, bazo, nódulos linfáticos, sangre del ventrículo) las que son homogenizadas y procesadas según el sistema diagnóstico a emplear. Además se pueden utilizar muestras de tejidos fijadas en formalina e incluidas en parafina para la detección de antígenos virales, con la utilización de métodos inmunohistoquímicos o la detección del genoma viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, siglas en inglés).

Para el **diagnóstico serológico** a partir de la determinación de anticuerpos IgM, se recomienda la toma de muestra de suero después del quinto día de comienzo de los síntomas. Mientras que para determinar el incremento en título o la seroconversión de anticuerpos IgG se utilizan muestras pareadas de sueros (tomadas en los primeros siete días de comienzo de los síntomas y 14 a 21 días después). Adicionalmente, se ha demostrado la utilidad de las muestras de sangre seca sobre el papel de filtro, tanto para la detección de anticuerpos IgM como IgG específicos contra los virus del dengue; así como la utilidad de la saliva para la detección de dichos anticuerpos, IgM e IgG.



Cinética de la respuesta inmune en la infección por dengue

## Métodos Directos

### Aislamiento viral

Existen varios sistemas disponibles para el aislamiento viral: los ratones recién nacidos inoculados por la vía intracerebral, en los que la infección produce parálisis y otros signos de afectación del SNC; los cultivos celulares, tanto líneas de mamíferos (Vero, LLCMK2 y BHK-21) como de mosquitos (C6/36 HT, AP-61) siendo estas últimas las más sensibles y por último los mosquitos del género *Aedes albopictus* y *Toxorhynchites amboinensis* han demostrado ser de gran utilidad en el aislamiento de estos agentes. Los cultivos celulares de mosquitos son el sistema de elección para diagnóstico de rutina del dengue, por su adecuada sensibilidad y la posibilidad de procesar un elevado número de muestras a relativamente bajo costo.

## Identificación viral

Para la identificación viral se utiliza la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Henchal y colaboradores han desarrollado anticuerpos monoclonales específicos de grupo (Flavivirus), complejo (Dengue), subcomplejo y tipo. La identificación en la siembra primaria es en algunos casos imposible, por lo que se necesitan uno o dos pases en el mismo sistema celular con el objetivo de incrementar la concentración viral.

La utilización de un anticuerpo policlonal (líquido ascítico hiperinmune de ratón o un suero humano de alto título de anticuerpos contra los virus del dengue) permite realizar un pesquiasaje inicial para detectar las muestras positivas mediante IFI. Un segundo ensayo, con la utilización de anticuerpos monoclonales específicos para cada uno de los cuatro serotipos del virus, permite la tipificación.

## Detección molecular

La **hibridación de ácidos nucleicos** ha sido aplicada tanto en el diagnóstico como en los estudios epidemiológicos. Por ejemplo se han realizado ensayos a partir del ARN extraído de células infectadas con el virus o de homogenizados de mosquitos *Aedes albopictus* infectados, utilizando para la hibridación sondas específicas biotiniladas o radiactivas marcadas con  $^{32}\text{P}$ . La detección utilizando sondas biotiniladas es menos sensible que la que utiliza sondas radiactivas y no es de gran utilidad en la identificación directa del virus en muestras clínicas, a menos que se haya realizado una amplificación previa del material genético.

La **PCR** ha sido ampliamente difundida y utilizada en el diagnóstico del dengue debido a la rapidez con que se obtienen los resultados, pudiéndose detectar el ácido nucleico viral de forma directa en muestras de suero, células infectadas, sobrenadantes celulares y en larvas infectadas, así como en muestras de tejidos frescos y embebidas en parafina tomadas de fallecidos por FHD. A su vez, tiene como ventaja que permite determinar la presencia de infecciones concurrentes por dos serotipos. Lanciotti y colaboradores, desarrollaron una PCR rápida con la utilización de cebadores consenso localizados en los genes C y prM. La primera PCR produce un fragmento de 511 pb, la cual es seguida de una PCR anidada utilizando cebadores específicos para cada serotipo.

La PCR también es extremadamente útil en el estudio genómico de cepas, ya sea a través del análisis de los patrones obtenidos luego de la digestión con enzimas de restricción o mediante la secuenciación nucleotídica de los productos de PCR.

## Detección antigénica

Un método alternativo para el diagnóstico rápido del dengue es la detección directa del antígeno viral en el suero del paciente o en muestras de tejidos de fallecidos, con la utilización de **sistemas inmunoenzimáticos y técnicas**

**inmunohistoquímicas.** En general los sistemas inmunoenzimáticos diseñados para detección de antígeno viral muestran baja sensibilidad, sobre todo cuando se estudian muestras procedentes de individuos que sufren una segunda infección por dengue. En este sentido, Young y colaboradores sugirieron que la detección de la proteína NS1 en suero de los pacientes pudiera servir como un marcador para medir la viremia.

## Métodos Indirectos

### Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico del dengue es complicado, por causa de los determinantes antigénicos de reactividad cruzada compartidos entre los cuatro serotipos y los Flavivirus en general. Por otra parte, considerando los elevados niveles de anticuerpos observados en los individuos que desarrollan una infección de tipo secundaria, el estudio de monosueros tomados en la fase aguda o en la convalescente temprana puede ser de utilidad como criterio de caso probable o presuntivo de dengue.

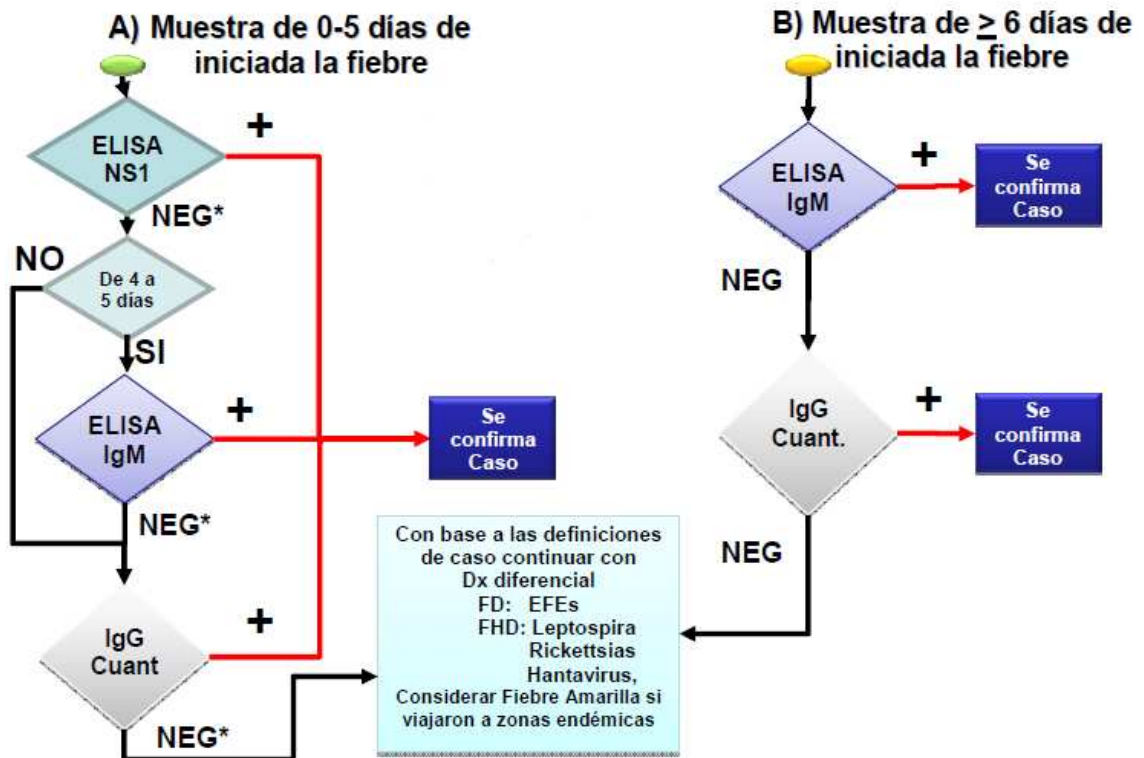
Los virus del dengue son capaces de aglutinar los glóbulos rojos de ganso; esto ha permitido que la técnica de **inhibición de la hemaglutinación (IHA)** sea aplicada en el estudio serológico de monosueros y pares de sueros, con la utilización de antígenos de los cuatro serotipos producidos en cerebro de ratón lactante y extraídos mediante el método de sacarosa-acetona.

La **prueba de neutralización por reducción de placas** es un ensayo sensible y específico, que permite la detección de anticuerpos neutralizantes. Se ha planteado que en un individuo con una infección de tipo secundaria, el título de anticuerpos neutralizantes al primer serotipo que produjo la infección primaria, es mayor que contra el serotipo infectante durante la segunda infección. La prueba de neutralización por reducción de placas es considerada de gran utilidad en estudios seroepidemiológicos por su elevada especificidad, lo que permite identificar el serotipo causante de una infección pasada. También ha sido utilizada en la identificación de los virus del dengue.

En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas **ELISA** para el diagnóstico del dengue. Estos sistemas son económicos, rápidos, fáciles de ejecutar y muestran a su vez elevada sensibilidad y especificidad cruzada, por lo que son de gran utilidad como pruebas de "tamizaje". Todas estas características permiten que puedan ser utilizados para determinar la presencia de anticuerpos totales anti-flavivirus en estudios seroepidemiológicos y en el diagnóstico serológico.

El **ELISA de captura de IgM** ha constituido uno de los sistemas más importantes y útiles para el diagnóstico y la vigilancia del dengue. Los anticuerpos IgM anti-dengue se producen transitoriamente durante las infecciones primaria y secundaria y su detección indica una infección activa o reciente por dengue. La detección de anticuerpos IgM se ha convertido en una

herramienta de incalculable valor para la vigilancia del dengue y resulta el método de elección en la mayoría de los laboratorios.



Algoritmo diagnóstico para casos probables de FD y FHD

Recientemente se ha desarrollado un sistema visual de tira reactiva que se basa en una *inmunocromatografía*, el cual permite la detección de anticuerpos IgM en menos de 5 min. Dicho sistema muestra niveles de sensibilidad y especificidad de 99 y 96%, respectivamente.

Otro sistema que ha sido ampliamente utilizado en el diagnóstico es el *ELISA de inhibición*, que permite detectar la presencia de inmunoglobulinas totales contra los virus del dengue, así como determinar los títulos de anticuerpos.

3. De acuerdo a los métodos que nombré en el ítem anterior, diseñe y explique cómo realizaría un método directo y otro indirecto para diagnóstico de Dengue, consignando: tipo de muestra, Ag, Ac, soporte, etc..

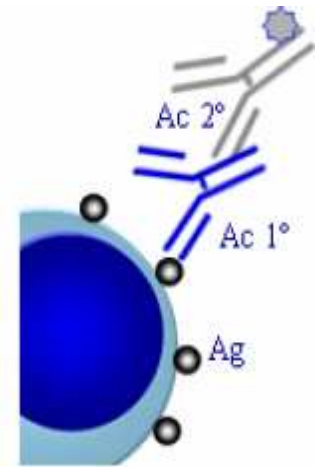
### Método Directo

## IDENTIFICACIÓN VIRAL POR INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

El método más sensible, rápido y económico de identificación del virus es mediante IFI, utilizando anticuerpos monoclonales específicos contra los cuatro serotipos del virus.

## PROCEDIMIENTO

1. Cubrir las áreas con la dilución de screening de las muestras. Para determinaciones cuantitativas, preparar diluciones seriadas.
2. Incubar las muestras en cámara húmeda a temperatura ambiente.
3. Enjuagar los portaobjetos con PBS.
4. Preparar la dilución del conjugado fluoresceinado y cubrir cada área reactiva con él.
5. Incubar las muestras en cámara húmeda a temperatura ambiente.
6. Enjuagar los portaobjetos con PBS.
7. Colocar medio de montaje y cubrir con cubreobjetos.
8. Leer los portaobjetos inmediatamente en un microscopio de fluorescencia.

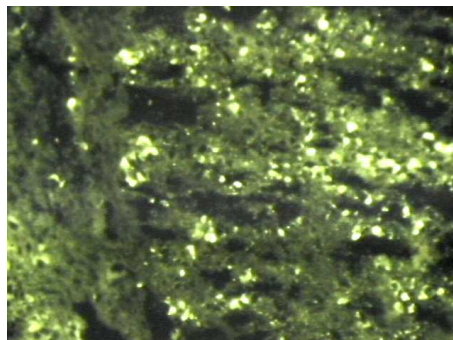


## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Las células fluorescentes se observarán cuando haya una reacción con el Ac monoclonal específico. Ejemplo: Si el virus aislado es el DEN-2 sólo se observará fluorescencia en los pozos donde se añadió el monoclonal anti-DEN-2.

Un aislamiento positivo confirma un caso de Dengue.

**Nota:** La fluorescencia es citoplasmática.



## Método Indirecto

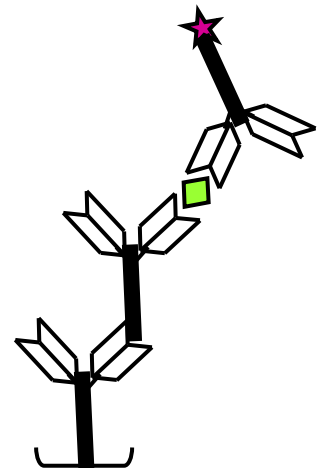
### ELISA DE CAPTURA DE IGM

- \*El Ac de captura está adsorbido a un soporte sólido. Debe ser específico para una Ig humana (en este caso IgM).
- \*Se añade la muestra que contiene la Ig a ser estudiada.
- \*Se añade luego un Ag específico para la Ig.
- \*Un Ac anti-Ag conjugado será el responsable del desarrollo de la reacción de color.



## PRINCIPIO DE LA TÉCNICA

Las policubetas serán sensibilizadas con una inmunoglobulina de carnero anti-IgM humana, la cual reaccionará con los anticuerpos de clase IgM presentes en la muestra del paciente. Al adicionar el antígeno del virus del Dengue (VD) este reaccionará con las IgM capturadas previamente si estas son específicas para el virus. Posteriormente se adiciona el conjugado, formado por Ig anti-VD acopladas a la enzima peroxidasa de rábano. Si las reacciones previas han sido específicas el conjugado reaccionará con el antígeno del VD. Cuando se adiciona el sustrato este es degradado por la enzima peroxidasa traduciéndose en un cambio de color en la reacción en las muestras positivas.



## APLICACIÓN

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

## REACTIVOS

- \*Policubeta
- \*Inmunoglobulina de carnero anti-IgM humana
- \*Antígeno del VD
- \*Suero Humano negativo a Dengue (SHN)
- \*Inmunoglobulina anti-VD acoplada a la enzima peroxidasa de rábano
- \*Tetrametil Bencidina (TMB)
- \*Buffer fosfato salino (PBS)
- \*Suero control positivo
- \*Suero control negativo
- \*Ácido sulfúrico

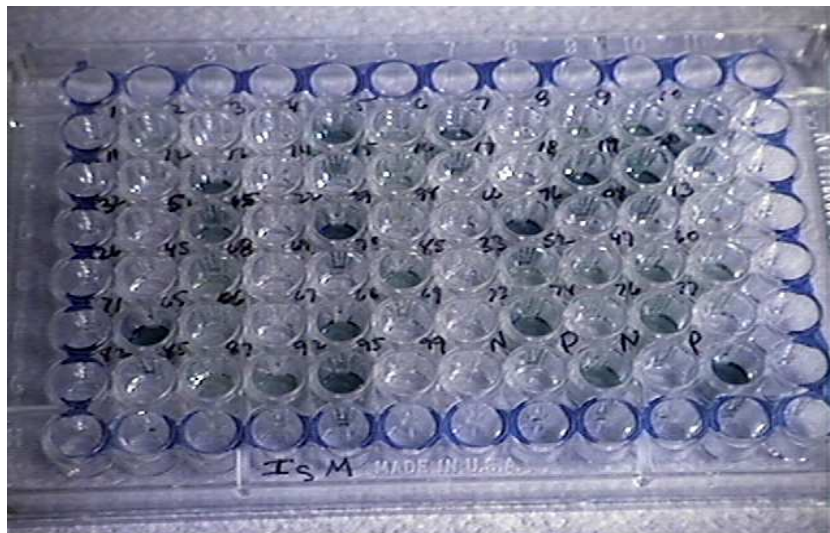
## PROCEDIMIENTO

- 1- Las policubetas son sensibilizadas con anti-IgM humana producidas en carnero.
- 2- Incubar a 50° C durante 30'.
- 3- Lavar con PBS.
- 4- Adicionar las muestras de sueros y los controles negativos y positivos.
- 5- Incubar 30' a 37° C.
- 6- Lavar con PBS.

- 7- Adicionar la mezcla de antígeno celular de los 4 serotipos de Dengue, diluidos en PBS más SHN.
- 8- Incubar 1 hora a 37° C.
- 9- Lavar con PBS.
- 10- Adicionar el conjugado diluido en PBS más SHN.
- 11- Incubar 30' a 37° C.
- 12- Lavar con PBS.
- 13- Adicionar sustrato TMB.
- 14- Incubar de 10 a 15' a temperatura ambiente y en la oscuridad.
- 15- Detener la reacción con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### INTERPRETACIÓN VISUAL

Si se opta por este tipo de interpretación debe considerarse No Reactiva toda muestra que no presente una coloración mayor que la de los Controles Negativos. Por el contrario, una muestra netamente amarilla se considera Reactiva.



4. Conociendo la inmunopatogenia del Dengue, ¿cuáles son los inconvenientes que existen actualmente y que dificultan el desarrollo de una vacuna contra el virus? Imagine cuál podría ser un modelo de vacuna efectiva.

En 1984 fue creado, por el director general de la OMS, un comité para el desarrollo de vacunas contra Dengue cuyo objetivo era chequear la marcha del programa de vacunas atenuadas que se estaba llevando a cabo y estimular la participación de diferentes laboratorios en el desarrollo de vacunas contra dicho patógeno mediante el uso de la tecnología del ADN recombinante.

Aunque varios grupos de avanzada se incorporaron al desarrollo de tal objetivo no existe todavía una vacuna contra Dengue disponible en el mercado. Varios son los problemas que han incidido en el desarrollo de las mismas, entre los cuales se destacan:

- ✗ la replicación insuficiente de estos virus como para formular una vacuna inactivada económica,
- ✗ la no existencia de un modelo animal que reproduzca los síntomas que provoca la enfermedad en humanos,
- ✗ el hecho de que para lograr una vacuna satisfactoria, ésta debe ser tetravalente para evitar la inducción de inmunoamplificación durante infecciones subsecuentes por serotipos heterólogos y así minimizar el riesgo de FHD/SCD,
- ✗ y otro factor a tener en cuenta es la posibilidad de que surjan nuevas variantes del virus que puedan burlar la inmunidad inducida por la vacuna.

Por otra parte no se cuenta con una vía perfecta para desarrollar una vacuna ya que todas las estrategias existentes hasta el momento presentan ventajas y desventajas.

### Vacunas atenuadas

Los primeros candidatos vacunales que se obtuvieron contra el Dengue fueron *virus vivos atenuados* mediante el pase seriado de cepas de virus Dengue en cerebro de ratón lactante o en sustratos celulares.

Estas vacunas desarrolladas contra Dengue presentan los mismos inconvenientes que el resto de las vacunas vivas atenuadas, son lábiles a los cambios de temperatura, su posible reversión a la virulencia, interferencia con la infección natural y atenuación insuficiente. Así como comparten sus principales ventajas, generan una inmunidad protectora a largo plazo y se necesita una cantidad mínima de antígeno para producir una buena respuesta protectora ya que el virus es capaz de replicarse.

### Vacunas inactivadas

Aunque el desarrollo de vacunas inactivadas contra Dengue no ha sido muy explotado debido a la pobre replicación del virus en cultivos celulares, esta vía no ha sido completamente desechada. Putnak y col. desarrollaron un candidato vacunal inactivado contra DEN-2 en células de pulmón fetal de monos rhesus y evaluaron la respuesta en ratones obteniendo altos títulos de anticuerpos neutralizantes contra el serotipo homólogo y protección parcial en dichos ratones. Otro candidato del mismo virus se desarrolló en células Vero el cual indujo altos títulos de anticuerpos neutralizantes en ratones y monos rhesus. Los ratones inmunizados fueron completamente protegidos ante un reto con la cepa salvaje y los monos vacunados mostraron una significativa reducción en los días de viremia al ser retados con la cepa salvaje.

### Empleo de vectores infecciosos

La ingeniería genética también ha sido ampliamente utilizada para la obtención de un inmunógeno contra el virus. Una de las estrategias que se ha seguido ha sido la utilización de vectores infecciosos como vaccinia y otros

poxvirus relacionados para expresar genes del virus; varios de estos recombinantes han sido probados en animales.

Las ventajas del uso de vectores vivos en la generación de vacunas son la inducción de buenas respuestas celulares y que se evitan los problemas del procesamiento y purificación del antígeno inherentes a las vacunas de subunidades proteicas. Uno de los inconvenientes que tiene el empleo de vaccinia para este fin es su capacidad potencial de causar infecciones generalizadas en personas inmunodeprimidas, lo cual ha sido mejorado con el uso de virus vaccinia atenuado y con la introducción de vectores más aceptables como los poxvirus que tienen un rango hospedero limitado cuya replicación es abortiva en especies no aviares.

### **Vacunas de subunidades**

El camino de las vacunas de subunidades proteicas también ha sido explorado para la expresión de proteínas recombinantes para lo cual se han utilizado tanto vectores procariontes (bacterias) como eucariotes (levaduras).

### **Virus atenuados por ingeniería genética y clones infecciosos de ADN**

Una tecnología de gran potencial para la obtención de vacunas contra Dengue es el desarrollo de virus atenuados por ingeniería genética y de clones infecciosos de ADN. Esta permite determinar qué nucleótidos son los responsables de la atenuación de cepas salvajes, desarrollar lotes de vacunas atenuadas con alta estabilidad genética, constituye una alternativa para la obtención de vacunas de virus atenuados por la vía clásica y alterar o reemplazar genes virales para lograr candidatos vacunales no patogénicos y altamente inmunogénicos.

### **Generación de estructuras semejantes a viriones**

La generación de estructuras particuladas semejantes a viriones también ha sido empleada para obtener un candidato vacunal contra Dengue. Se han obtenido estructuras esféricas con un diámetro de 30 nm y morfología semejante a la de Dengue, en las que se comprobó la existencia de proteína E al utilizar anticuerpos monoclonales en una inmunomicroscopía electrónica; dichas estructuras se obtuvieron al coexpresar las proteínas estructurales de Dengue 1 en levaduras y fueron capaces de inducir anticuerpos neutralizantes al emplearlas en inmunización de conejos.

### **Vacunas de ADN**

Las vacunas de ADN han acaparado el interés de muchos investigadores involucrados en el desarrollo de vacunas contra Dengue. Estas vacunas brindan la posibilidad de que las proteínas virales sean procesadas dentro de las células hospederas, facilitan la formación de epitopes conformacionales y se estimula la respuesta celular citotóxica, sin embargo tiene como desventajas la posibilidad de

que el ADN se integre al genoma celular, la generación de enfermedades autoinmunes y que se induzca una tolerancia inmunológica.

*En los últimos años se ha logrado un mayor conocimiento de la enfermedad y su etiopatogenia así como de los aspectos necesarios para lograr una vacuna que brinde protección efectiva y duradera para el virus. Sin embargo, la prevención de la FD y FHD dependen en gran medida del esclarecimiento de la patogénesis de la enfermedad, de la respuesta inmune natural a la infección y de la posible diversidad genética del genoma viral por lo que el desarrollo de vacunas potentes y seguras, sobre todo para las poblaciones que viven en áreas endémicas, continúa siendo un reto para los años venideros.*

## Conocé un poco más sobre Dengue

### *La historia del dengue y su epidemiología*

El dengue es una enfermedad infecciosa de origen viral que se trasmite al hombre a través de un mosquito del género *Aedes*, provocando una enfermedad con un amplio espectro de formas clínicas que va desde la fiebre indiferenciada hasta las formas más graves con hemorragia y choque.

La primera descripción de una enfermedad compatible con dengue se publicó en la Enciclopedia China en el año 992 de nuestra era. Sin embargo, no fue hasta 1635 que en las Indias Francesas del Oeste se conoció un reporte similar, donde la enfermedad fue denominada “Coup de Barre”. En 1779, en Batavia, Indonesia se reportó una epidemia de casos febriles denominada “Knockelkoorts” (Fiebre de huesos) y en el mismo año en el Cairo, Egipto se le denominó “Mal de Genoux” (problemas de rodilla). En 1780 en Filadelfia, EUA se reportó la enfermedad febril como “Escarlatina reumática”.

La ocurrencia casi simultánea de epidemias en Asia, África, y América del Norte indicó una distribución mundial de estos virus y su vector. En sus inicios, se consideró una enfermedad benigna de los visitantes a los trópicos. Las epidemias se producían a intervalos de 10-40 años, principalmente porque los virus y su vector transmisor sólo podían transportarse entre los centros de la población a través de la navegación.

Fueron varios los nombres asociados a esta enfermedad de acuerdo a la región geográfica. De esta forma se denominó “La Piadosa” en Cádiz, España (1784-86), “Dengue” en España (1809), Ki Dinga Pepo, Denga en Zanzíbar, África del Este (1823), “Ephemeral fever” en Calcutta, la India (1824), “Dandy fever” Santo Tomas, Islas Virginias (1827), “Dunga, Dengue” en Cuba, 1828, “Polka fever” en Brasil, (1845-49), “Three-day or Seven-day fever” en la India, 1909, “Ban-Sha” en Taiwan, 1916 y “Five-day fever” en Indonesia (1960). A partir de la década de los años cincuenta se denominó FD a la forma clásica y FHD/SCD a la forma severa de la enfermedad.



Los estudios de la enfermedad comenzaron con la demostración por Graham en 1903 de la capacidad de los mosquitos para transmitir el dengue. El virus dengue se aisló por primera vez en Hawái en 1944, al que se denominó DEN-1 y en el mismo año se aisló en Nueva Guinea otra cepa relacionada antigénicamente a la que se denominó DEN-2.

En Manila, 1956 y 1960, se aislaron los serotipos 3 y 4 a partir de muestras clínicas de pacientes con un cuadro de dengue hemorrágico.

### *Emergencia Mundial*

La pandemia global de dengue que empezó en el Sudeste de Asia después de la Segunda Guerra Mundial, se ha intensificado durante los últimos 30 años, siendo frecuentes las epidemias causadas por varios serotipos (hiperendemicidad). En el Sudeste Asiático, la FHD en su forma epidémica apareció por primera vez en los años cincuenta, en 1975 ya era una causa importante de hospitalización y muerte, fundamentalmente en niños.

Hasta el año 1990, se habían reportado oficialmente alrededor de 3 millones de casos de FHD, la mayoría de estos en Asia. Tomando en consideración solamente a Tailandia, entre 1958 y 1990 se reportaron 874.207 casos, con una tasa de mortalidad del 1,57 % siendo en este país la quinta causa de morbilidad y la tercera causa de muerte. En Asia, la FHD es considerada una enfermedad de la niñez, observándose dos picos de mayor tasa de incidencia en edades específicas: niños menores de un año de edad y niños entre tres y cinco años. La enfermedad en recién nacidos se asocia a infecciones primarias en presencia de anticuerpos maternos, mientras que la mayoría de los casos observados en niños mayores son el resultado de infecciones secundarias.

En los años ochenta, la FHD comenzó su segunda expansión por Asia cuando Sri Lanka, la India, y las Islas Maldivas tenían sus primeras epidemias de FHD. Las recientes epidemias en Sri Lanka y la India han estado asociadas con múltiples serotipos de los virus del dengue, siendo el DEN-3 predominante y genéticamente distinto de los DEN-3 aislados previamente en esos países. En otros países de Asia donde la FHD es endémica, las epidemias han sido progresivamente de mayor extensión en los últimos 15 años.

Los factores responsables de la emergencia de la FHD como una enfermedad epidémica en Asia en los años cincuenta y del reciente incremento en su incidencia incluyen:

1. Cambios demográficos (crecimiento poblacional y urbanización no planificada) que favorecen el contacto con el vector, el mosquito doméstico *A. aegypti*.
2. Cambios ecológicos relacionados a la urbanización (pobre saneamiento ambiental, inadecuado suministro de agua que implica el almacenamiento doméstico de la misma).

3. El rápido incremento de los viajes aéreos, que posibilita el movimiento de personas en fase virémica y la diseminación de múltiples serotipos y cepas del dengue.

4. Establecimiento de una situación de hiperendemicidad y aumento de la frecuencia de infecciones secuenciales en niños.

En el Pacífico, los virus del dengue fueron reintroducidos tempranamente en la década del setenta después de una ausencia de más de 25 años. La actividad epidémica causada por los cuatro serotipos se ha intensificado en los años recientes con epidemias de FHD en varias islas de esa región.

La vigilancia del dengue en África ha sido extremadamente pobre, previo a los años 80 la mayoría de los brotes no eran reportados y actualmente aunque la vigilancia no ha mejorado, se ha incrementado el número de reportes. Más recientemente, la mayor actividad epidémica ha ocurrido en África Oriental.

Los factores descritos previamente como determinantes de la emergencia de la FHD en Asia, algunos años después, también fueron responsables de la emergencia en las Américas.

Al final de la década de los años 70 la distribución de *Aedes aegypti* cambió dramáticamente debido al colapso de los esfuerzos para el control del vector. El patrón de las infecciones por dengue en la región latinoamericana cambió de brotes producidos por un simple serotipo con intervalos inter-epidémicos largos a brotes anuales y co-circulación de tres de los cuatro serotipos del dengue. En 1977, se introdujo el DEN-1 en América provocando epidemias de FD a lo largo de toda la región y aún se encuentra circulando. El DEN-3 por su parte estuvo circulando en la región entre los años 1963 y 1977, sin embargo se reportaban casos esporádicos de FHD.

En la década de los años 80, la FD/FHD se presentó como un problema de salud de gran envergadura. Específicamente en 1981, se reportó en Cuba una epidemia de FHD/SCD sin precedentes en las Américas, causada por una cepa de DEN-2 de origen asiático, relacionada genéticamente con la cepa NGC del año 1944. En este mismo año también se introdujo el DEN-4 en la región. En este período, ambos serotipos causaron epidemias siendo relevantes las epidemias causadas por el DEN-2 en Venezuela y Brasil. Por su parte, el DEN-4, afectó notablemente a Puerto Rico, México, Surinam y El Salvador.

En la década de los años 80 y 90 estuvo circulando en la región más de un genotipo de DEN-2, de esta forma otras epidemias fueron causadas por cepas relacionadas genéticamente con la cepa Jamaica/83 también de origen asiático.

En 1994, tras una ausencia de 17 años, el DEN-3 fue reintroducido en Latinoamérica. Se realizaron aislamientos casi simultáneamente en Nicaragua y Panamá; posteriormente en Costa Rica en el año 1995. Los estudios filogenéticos realizados muestran que el virus aislado tuvo su origen en Asia, relacionándose

genéticamente con los virus aislados en la India y Sri Lanka en los años ochenta, y por tanto diferente del que circuló previamente en la Región durante los años 1963-1977. Debido a la susceptibilidad de la población en los trópicos americanos, esta nueva cepa de DEN-3 se extendió rápidamente a lo largo de la región, causando epidemias de FD/FHD.

La enfermedad es endémica en las Américas, Sudeste de Asia, Pacífico Oeste, África, Mediterráneo Oriental, con mayor carga en las tres primeras regiones.

Aunque los cuatro serotipos del dengue son capaces de producir casos de FHD, el DEN-2 y el DEN-3 son los más frecuentemente asociados con la enfermedad severa. La infección por DEN-1 seguida por DEN-2 ha sido asociada con epidemias de FHD, aunque en áreas hiperendémicas no es fácil definir el virus causante de la infección primaria.

### *Origen de los virus del dengue*

Dentro de los Arbovirus los virus del dengue son los únicos que aparentemente han “escapado” de las ataduras de una existencia selvática. Estos evolucionaron con la capacidad de circular dentro de la población humana de todas las regiones tropicales y subtropicales, en un ambiente urbano. Esta característica los diferencia del virus de la Fiebre Amarilla que es capaz de producir epidemias urbanas sólo temporalmente. Las epidemias de Fiebre Amarilla aparecen cuando el virus selvático es reintroducido en áreas rurales o urbanas. Contrariamente, las cepas selváticas de dengue no han sido asociadas con epidemias en humanos. Algunos estudios experimentales han indicado que los vectores urbanos son más susceptibles a cepas de DEN-2 urbanas que a cepas selváticas, esto es consistente con la hipótesis que plantea que el dengue urbano emergió a través de la adaptación de mosquitos peridomésticos.

Los estudios antigénicos han demostrado que los virus del dengue deben ser clasificados como flavivirus. Sin embargo, para dar luz a la historia evolutiva de estos virus se ha requerido de un análisis filogenético molecular más detallado. Independientemente de la alta resolución de estos estudios, muchos aspectos relacionados con el pasado de los virus del dengue permanecen sin respuesta. Todos los análisis realizados hasta la fecha muestran que los cuatro serotipos del dengue son filogenéticamente distintos y frecuentemente con el mismo grado de divergencia con que es posible distinguir entre “especies” diferentes de flavivirus.

El análisis filogenético de más de 70 flavivirus realizado por Kuno y colaboradores basado en la secuencia del gen NS5 permitió distinguir tres grupos fundamentales de flavivirus, esta división generalmente se relaciona con el modo de transmisión: virus transmitidos por garrapatas, por mosquitos y con vector desconocido.

Aunque el agrupamiento de los virus del dengue dentro de la rama de los virus transmitidos por mosquito está bien soportado, la cercanía relativa entre ellos no puede ser determinada con certeza, ya que se obtiene un débil soporte

de re-muestreo en los nodos críticos del árbol. Para la resolución de esta parte de la filogenia de los flavivirus se requiere de un análisis a partir de secuencias de genomas completos, las cuales no se han realizado aún, al menos a gran escala.

La mayoría de las filogenias muestran el DEN-4 como el primero en bifurcarse, indicando que fue el primer serotipo en emerger, seguido por DEN-2 y la partición final entre DEN-1 y DEN-3. No obstante, algunas filogenias muestran resultados diferentes. Por ejemplo, algunos árboles obtenidos a partir de la secuencia de NS5, aunque con un débil soporte de re-muestreo, revelan que el DEN-2 se agrupa con el DEN-3. Utilizando el mismo tipo de análisis pero con otras regiones del genoma, puede apreciarse que el DEN-2 se agrupa con el DEN-4. No está claro aun si esta ubicación de las ramas es enteramente estocástica o es una señal de recombinación muy antigua.

A pesar de la falta de resolución en los árboles filogenéticos de flavivirus, pueden hacerse algunas inferencias con relación al origen de los virus del dengue. Se han realizado observaciones claves en este sentido: a) la identificación de ciclos de transmisión selvática en Asia y África occidental que involucran monos y b) la ubicación de cepas selváticas específicamente de DEN-2 y DEN-4 en la base de árboles construidos con aislamientos provenientes de humanos. Esto podría ser así para DEN-1, aunque no se ha hecho todavía el análisis y en el caso de DEN-3, aún no se han identificado cepas selváticas; sin embargo, la presencia de anticuerpos a DEN-3 en monos de Malasia sugiere que también existe un ciclo selvático para este serotipo. De aquí se derivan fuertes evidencias de que el dengue fue un virus originalmente de monos y que la transmisión entre especies a humanos ha ocurrido independientemente para los cuatro serotipos.

Lo que no está definido de manera absoluta es donde se originó el dengue. Gaunt y colaboradores sugirieron un origen africano, principalmente debido a que muchos de los flavivirus transmitidos por mosquitos, que revelan la mayor divergencia, circulan exclusivamente en África y con frecuencia infectan primates, lo que sugiere que este grupo tuvo su origen en África. Unido a esto, también se plantea que el *Aedes aegypti* tuvo su origen en África. No obstante, esta especie es probable que haya sido adoptada como vector para la transmisión a humanos en un pasado relativamente reciente.

Contrariamente, la presencia de los cuatro serotipos en Asia tanto en humanos como en monos y particularmente la profunda posición filogenética de las cepas selváticas asiáticas sugiere que el virus tuvo un origen asiático. La elevada prevalencia del dengue en esta región también podría apoyar la segunda hipótesis, pero no es menos cierto que sólo un pequeño número de muestras africanas (de humanos y monos) están disponibles para su análisis. Claramente, para determinar el lugar de origen de los virus del dengue se requerirá de un muestreo más amplio de cepas selváticas y de filogenias moleculares más precisas.

Una pregunta obligada con relación al origen de los virus del dengue es: ¿Por qué existen cuatro serotipos diferentes? Según la hipótesis planteada por Holmes y colaboradores, es muy probable que los virus del dengue se hayan

separado en cuatro linajes debido a divisiones ecológicas o geográficas en diferentes poblaciones de primates y por tanto los cuatro serotipos evolucionaron de forma independiente.

Alternativamente, otros autores plantean que los virus del dengue pudieron evolucionar dentro de una única población, porque la presencia de cuatro serotipos antigénicamente diferentes facilitó la transmisión a través del fenómeno de ADA. Bajo este modelo, la selección natural favorece a los virus con un grado de disimilaridad antigénica que maximice la amplificación inmunológica.

Si la ADA fuese la fuerza fundamental que determina la diversidad genética de los virus del dengue; entonces debía esperarse que los virus estuvieran sometidos a una constante presión selectiva de tipo inmunológica. Los estudios de selección natural realizados hasta la fecha muestran que ese no es el caso de los virus del dengue.

Consecuentemente, la ADA, más que una estrategia evolutiva a largo plazo, muy probablemente sea el resultado del contacto reciente entre los cuatro virus que evolucionaron por separado durante un período extenso y por casualidad tienen un nivel de disimilaridad antigénica, que permite la inmunoamplificación. Aunque existen numerosas evidencias que relacionan la ADA con la patogénesis del dengue, su influencia en la diversificación genética de los virus del dengue requiere una mayor investigación.



## CASO CLÍNICO N°2

Una mujer embarazada de 35 semanas presenta un cuadro gripal. El médico solicita estudio de laboratorio para búsqueda de virus Influenza H1N1.

a) ¿Que estudios de laboratorio realizaría? Explique brevemente.

### Toma de muestras de casos sospechosos de influenza

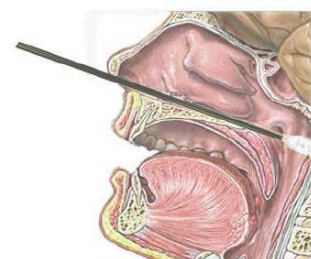
Para incluirla en este algoritmo de trabajo, la paciente debe estar comprendida en la definición de caso que esté consensuada y debe cumplir con las condiciones epidemiológicas que la caractericen como caso probable de influenza.

Se deberá tener en cuenta la provisión de elementos adecuados (hisopos, medios de transporte para virus y envases de seguridad) para los establecimientos donde se proceda a la toma de muestras, además de los elementos de protección del personal.

### Procedimientos para la toma de muestras

#### Hisopado nasal

- Completar la ficha de identificación de la muestra.
- Colocarse los elementos de protección personal apropiados para proceder a la toma de la muestra.
- Retirar de la heladera un tubo con medio de transporte.
- Rotular el tubo de manera que pueda identificarse la muestra utilizando para ello un marcador de tinta indeleble.
- Utilizar un hisopo estéril de dacrón con palillo plástico (no usar hisopos de madera y algodón). Retirar uno de su envase.
- Sostener el hisopo por el palillo.
- Inclinar suavemente la cabeza de la paciente hacia atrás sujetando el mentón.
- Insertar el extremo de dacrón del hisopo en la narina derecha de la paciente.
- Girar el hisopo sobre la mucosa nasal para asegurar que se recojan células y mucus. Evitar que se produzca sangrado de la mucosa.
- Retirar el hisopo.
- Remover la tapa del tubo con medio de transporte.
- Colocar el hisopo dentro del tubo de manera que quede sumergido en el medio de transporte.
- Cortar el sobrante del palillo del hisopo.
- Cerrar el tubo.



- Repetir el procedimiento para la nariz izquierda.
- Colocar el segundo hisopo en el mismo tubo con medio de transporte. En el caso de utilizar medios de transporte comerciales, como por ejemplo Virocult o Deltalab, utilizar un tubo con medio de transporte para cada hisopo.
- Cerrar nuevamente el tubo asegurándose de hacerlo de manera tal que no se produzcan derrames del material.
- Envolver el tubo con papel absorbente.
- Colocar el o los tubos envueltos en la bolsa plástica con cierre hermético.
- Colocar la bolsa con los tubos y la ficha de identificación en el contenedor plástico (envase secundario).

### Hisopado Faríngeo

- Retirar de la heladera un nuevo tubo con medio de transporte.
- Rotular el tubo de igual manera que el anterior.
- Tomar el hisopo y sostenerlo por el palillo.
- Con la boca de la paciente abierta y sosteniendo la lengua con un bajalengua realizar un escobillado de la parte posterior de la faringe de manera que se recojan células y mucus con el extremo de dacrón del hisopo. Evitar que se produzca sangrado de la mucosa.
- Retirar el hisopo.
- Remover la tapa del tubo con medio de transporte.
- Colocar el hisopo dentro del tubo de manera que quede sumergido en el medio de transporte.
- Cortar el sobrante del palillo del hisopo.
- Cerrar el tubo asegurándose de hacerlo de manera tal que no se produzcan derrames del material.
- Proceder de la misma forma que para el tubo con la muestra de HN.
- Puede usarse la misma bolsa plástica y envase secundario usado con la muestra de HN.



### Hisopado Rectal

En el caso de que la paciente presente diarrea, tomar una muestra de hisopado rectal teniendo en cuenta el instructivo de toma del Hisopado Nasal y Faríngeo.

### Sangre

- Completar la ficha de identificación de la muestra.
- Rotular un tubo plástico, con tapa a rosca, seco y estéril de manera que pueda identificarse la muestra utilizando para ello un marcador de tinta indeleble.
- Remover la tapa del tubo.
- Desinfectar la superficie de la piel de la zona en que se realizará la punción para la extracción de sangre.
- Extraer por venopuntura 5 cm<sup>3</sup> de sangre.

- Colocar la sangre entera extraída en el tubo.
- Cerrar el tubo de manera tal que no se produzcan derrames del material.
- Envolver el tubo con papel absorbente.
- Colocar el tubo envuelto en la bolsa plástica con cierre hermético. Puede usarse la misma que contiene las muestras anteriores y proceder de la misma forma.
- Colocar el contenedor plástico con todas las muestras de la paciente en la caja para realizar el envío.
- Verificar que la caja tenga pegadas las etiquetas correspondientes al destinatario y remitente del envío.
- Colocar la caja en la heladera a 4°C (no congelar) hasta el momento del envío.
- Realizar el envío de manera refrigerada.

### Preparación de Medio de Transporte para virus

Puede usarse el comercial tipo eurotubo de Deltalab, Virocult, etc. o fabricarlo como se indica a continuación.

- \*Tripteina Soya 30 g (Marca OXOID u otra)
- \*ADD 1000 mL
- \*Penicilina 1000 UI
- \*Estreptomicina 1000 µg
- \*Disolver y fraccionar en envases de 200 mL
- \*Si el medio de transporte se utiliza con gelatina, agregar 0,5% de gelatina bacteriológica, y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15'. Luego agregar ATB.
- \*Si se utiliza Albúmina, primero se autoclava el medio y luego se agrega albúmina al 0,5% esterilizada por filtración.

### Pruebas de laboratorio

#### Diagnóstico molecular

Los medios de diagnóstico molecular son actualmente el método preferido para la influenza A (H1N1) linaje porcino (swl) virus (A/California/4/2009 y virus similares).

El uso de ensayos con diferentes genes blanco es más apropiado para la identificación de este virus. Los siguientes genes blanco son importantes: gen matriz de la Influenza de tipo A (M); el gen de la hemaglutinina específico del virus de la Influenza A (H1N1) swl y el gen de la hemaglutinina específico de la Influenza estacional A H1/H3 y otros subtipos.

#### Información de la OMS para diagnóstico de laboratorio del nuevo virus de la Influenza A (H1N1) en seres humanos

Los siguientes protocolos están actualmente disponibles:

### *RT-PCR en tiempo real para la detección y caracterización de la influenza tipo A (H1N1)*

El análisis secuencial del producto de PCR del gen matriz de la influenza tipo A usando los cebadores de los protocolos de la OMS diferenciará entre genes M de linaje porcino y virus H1N1 estacionales. Sin embargo, un análisis adicional debe ser realizado para confirmar el origen del virus.

En este momento, las pruebas de RT-PCR convencional están siendo evaluadas.

### *Aislamiento y tipificación del virus mediante inhibición de hemaglutinina o IF*

Se pueden utilizar los protocolos vigentes para el aislamiento de virus de la influenza estacional usando células de MDCK e inoculación de virus en huevos embrionados, aunque su sensibilidad está aún pendiente de determinarse.

Los eritrocitos de pavos, pollos, conejillos de indias y humanos se aglutinarán con el virus de la influenza A (H1N1) swl. Los anticuerpos policlonales específicos para el subtipo H1 de los virus de la influenza estacional del kit de la OMS no reaccionarán con la prueba de inhibición de hemaglutinación (HAI) del virus actual de la influenza A (H1N1). Los resultados obtenidos utilizando los anticuerpos monoclonales H1 del kit de la OMS no debe tomarse como comprobación concluyente y se recomienda realizar una verificación adicional.

### *Pruebas de IF rápida*

La sensibilidad y especificidad de las pruebas de inmunofluorescencia rápida en el lugar de atención, diseñadas para la detección directa de los virus de la influenza tipo A son actualmente desconocidas.

Debe recalarse que estas pruebas no diferenciarán la influenza estacional de la del virus de influenza de tipo A (H1N1) swl.

### *Serología*

Se espera que las pruebas de HAI y las reacciones de micro-neutralización empleando el virus de la influenza A (H1N1) swl puedan detectar respuestas de anticuerpos después de la infección.

### **Interpretación de los resultados de laboratorio**

- **RT-PCR:** Una muestra se considera positiva si los resultados de las pruebas usando dos diferentes blancos de PCR (por ejemplo, iniciadores específicos para gen M y gen porcino de hemaglutinina H1) son positivos pero la PCR para virus humano H1 + H3 es negativo. Si RT-PCR en tiempo real para hemaglutinina

múltiple (HA) (es decir, H1, H3 y H1 de linaje porcino) da resultados positivos en la misma muestra, la posibilidad de contaminación de PCR debe ser primeramente excluida al repetir el procedimiento de PCR usando ARN nuevo extraído de la muestra original o ARN extraído de otra muestra. Si se repiten los resultados positivos para los blancos múltiples de HA, existe entonces la posibilidad de coinfección, que debe confirmarse mediante secuenciación o cultivo viral.

- **RT-PCR en tiempo real:** Un resultado de PCR negativo no permite descartar que la persona pueda estar infectada por el virus de la influenza A (H1N1). Los resultados deben interpretarse conjuntamente con la información clínica y epidemiológica disponible. Las muestras de los pacientes cuyos resultados de PCR son negativos pero para quienes hay una alta sospecha de infección con H1N1 deben investigarse más a fondo y ser analizadas por otros métodos como el cultivo o serología viral, para descartar infección por influenza A (H1N1) swl.

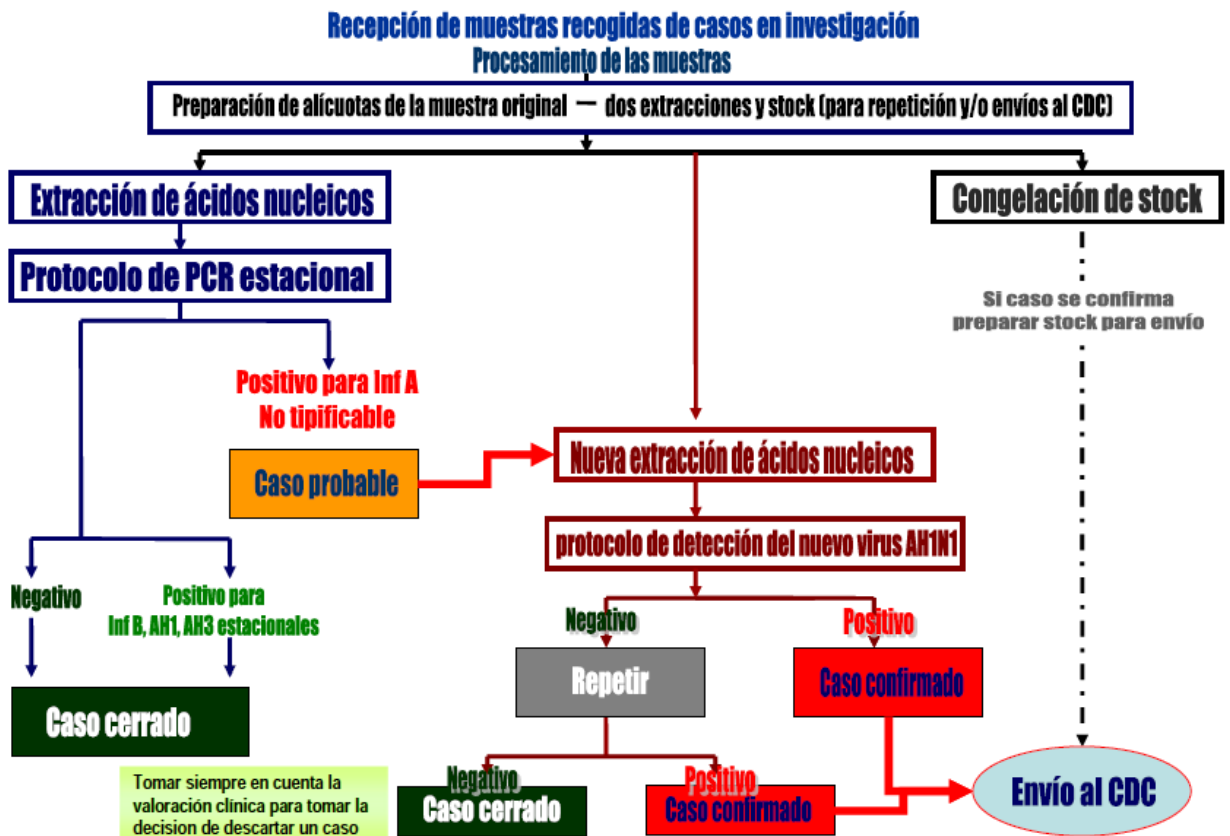
- **Serología:** Un incremento cuádruple en los anticuerpos neutralizantes específicos del virus de la influenza A (H1N1) indica infección reciente con el virus.

- **Secuenciación:** en esta etapa, la secuenciación de al menos uno de los blancos es esencial para la confirmación por RT-PCR convencional.

- **Aislamiento del virus:** La identificación y tipificación del cultivo de virus de influenza puede llevarse a cabo por PCR, por la técnica del anticuerpo fluorescente indirecto (IFA), la prueba usando anticuerpos monoclonales específicos de NP, o el análisis de HA y el análisis antigénico (subtipificación) por HAI usando antisueros de referencia seleccionados.



Algoritmo de diagnóstico laboratorial de infección por el nuevo virus Influenza A (H1N1)  
 Laboratorio Nacional **CON** capacidad de identificación del nuevo virus



b) ¿Considera de utilidad la vacunación? Justifique.

La mujer embarazada cumple las características para ser considerada población de riesgo, especialmente aquellas que están cercanas o cursando su tercer trimestre de gestación durante la estación anual de influenza.

La vacuna tiene un alto grado de seguridad y no se han descrito reacciones adversas fetales con esta inmunización. Por lo tanto, se recomienda la prescripción de la vacuna a las embarazadas que en período epidémico cursen su segundo o tercer trimestre de gestación. Se prefiere no vacunar en el primer trimestre, a pesar de que no existe evidencia de riesgo teratogénico en este período. No obstante, si la paciente es portadora de morbilidad cardiorrespiratoria crónica debe recibir la vacuna, independientemente del trimestre que curse.

En conclusión, es de gran importancia fomentar la vacunación entre las mujeres embarazadas como medida efectiva y segura, por lo que se debe insistir en esta recomendación en todas las campañas de vacunación para la influenza.

## Descripción de la vacuna de influenza

Existen disponibles vacunas compuestas de virus de influenza inactivados. Dentro de las vacunas inactivadas están las constituidas por virus completos y las de virus fraccionados, éstas últimas se asocian con menos eventos adversos.

## Composición

La vacuna de virus fraccionados, purificadas e inactivadas, están preparadas en huevos embrionados. Cada dosis de 0,5 mL se compone de:

- Cepa de tipo A/Sydney/5/97 (H3N2) (variante A/Sydney/5/97(IVR-108))
- Cepa de tipo A/Beijing/262/95 (H1N1) (variante A/Beijing/262/95(X-127))
- Cepa de tipo B/Beijing/184/93 (variante B/Yamanashi/166/98)

-Contiene timerosal como preservativo y mínimas cantidades de proteína de huevo.

Cada dosis de 0.5 mL de vacuna contiene 15  $\mu$ g de hemaglutinina de cada una de las cepas recomendadas.

## Presentación de la vacuna

Se presenta en frascos multidosis o jeringas precargadas con 0,5 mL de vacuna en estado líquido, incoloro a ligeramente opalescente.

## Inmunogenicidad

La inmunidad después de la vacunación con vacuna inactivada rara vez excede 1 año. Las vacunas son efectivas en proteger hasta 90% de los adultos sanos vacunados cuando la cepa vacunal es similar a la circulante. En ancianos los índices de protección son de 30% a 40% para prevenir la enfermedad clínica, sin embargo la vacuna es efectiva en prevenir complicaciones o muerte (80%).

## Indicaciones

### Inmunización en período Interpandémico

De acuerdo a las Normas Nacionales de Vacunación debe aplicarse en otoño, antes de los primeros fríos, idealmente antes de la segunda quincena de abril.

Argentina considera para la aplicación de vacuna antigripal anual a las personas con mayor riesgo de presentar complicaciones serias en caso de influenza:

### **Grupos de riesgo (GR):**

- ✗ personas mayores de 65 años.
- ✗ adultos y niños con afecciones crónicas de los sistemas pulmonar y cardiovascular (ej. cardiopatía, asma grave, enfisema, enfermedad fibroquística, hipertensión pulmonar, etc.)..
- ✗ pacientes con enfermedades metabólicas (diabetes), insuficiencia renal, hemoglobinopatías e inmunosupresión (incluye HIV (+) e inmunosupresión por medicación).
- ✗ niños o adolescentes que están bajo terapia prolongada con ácido acetilsalicílico (aspirina).
- ✗ grupos de personas que pueden transmitir la gripe a personas de alto riesgo: médicos, enfermeras, y aquellos que en hospitales o cuidados domiciliarios tienen contacto con grupos de alto riesgo.
- ✗ empleados de instituciones geriátricas y entidades de cuidados crónicos que tienen contacto con pacientes.
- ✗ personas que ocupan funciones críticas en caso de epidemia (servicios de seguridad, escuelas, etc.).
- ✗ convivientes con pacientes inmunosuprimidos.
- ✗ **embarazadas de alto riesgo que estarán en el segundo o tercer trimestre de embarazo durante las épocas de influenza.**

### **Vacunación en situación de pandemia**

La extensión de vacunación antigripal a otros grupos de edades se considerará oportunamente en reunión con expertos.

Si hay brote de influenza aviar u otro virus con potencial pandémico en el país y si se cuenta con vacuna específica para realizar bloqueo, la misma se aplicará junto con quimioprofilaxis.

En caso de no contar con la vacuna de cepa pandémica se considerará, si hay disponibles, el uso de vacuna a cepas contemporáneas en la población cercana al brote para evitar la posible recombinación en un mismo huésped de virus H1 o H3 con la cepa pandémica aviar por ejemplo H5 u otras cepas con potencial pandémico, por la posible generación de cepas que se adapten al pasaje interhumano.

La propuesta es (siempre que se cuente con los insumos suficientes):

Vacunar a responsables servicios de salud, de seguridad más las personas de alto riesgo de complicaciones.

### **Contraindicaciones**

-No debe administrarse a personas con reacción alérgica grave a dosis previa de vacuna de influenza.

-A sujetos alérgicos a las proteínas del huevo, a la gentamicina o a cualquier otro componente de la vacuna y que han presentado reacción anafiláctica.

-Debe posponerse en caso de enfermedad moderada a grave con o sin fiebre.

-Ni la lactancia ni el embarazo son contraindicaciones para vacunar contra la influenza.

### c) Tratamiento.

Los antivirales inhibidores de la neuraminidasa, sensibles a virus tipo A (H1N1) son Zanamivir y Oseltamivir y a la fecha las condiciones registro basadas en experiencias controladas indican que:

× Zanamivir está aprobado para el tratamiento de la influenza en adultos y niños a partir de los 7 años de edad y para la prevención de la influenza en adultos y niños a partir de los 5 años. Sólo está disponible para administración por vía inhalatoria.

× Oseltamivir está aprobado para el tratamiento y la prevención de la influenza en adultos y niños a partir del año de edad. Está disponible en forma de cápsulas y suspensión oral.

Ante la pandemia declarada oficialmente por la OMS y basándose en que los beneficios que se pueden obtener por la población son mayores a los riesgos potenciales, las Autoridades de Regulación de Medicamentos de Estados Unidos y Europa o sea la FDA y la EMEA respectivamente, han autorizado el *uso de emergencia de Oseltamivir en niños menores de 1 año, mujeres embarazadas y en período de lactancia y de Zanamivir en embarazadas y en período de lactancia.*

Estas consideraciones han sido evaluadas con el análisis de estudios epidemiológicos realizados durante períodos entre pandemias anteriores y datos procedentes de la gripe estacional, que indican que el riesgo de contraer la influenza durante el embarazo aumenta el riesgo de neumonía, complicaciones tales como abortos y partos prematuros y complicaciones perinatales. Asimismo los datos preclínicos y no clínicos realizados en animales, tanto Oseltamivir como Zanamivir no han mostrado tener efectos dañinos directos o indirectos sobre el desarrollo embrio-fetal, parto o desarrollo postnatal, pero no hay datos suficientes en seres humanos (Categoría C FDA).

Así, se debe iniciar el tratamiento con Zanamivir u Oseltamivir tan pronto como sea posible después de la aparición de los síntomas, obteniéndose los mayores beneficios si se comienza el tratamiento dentro de las 48 hs.

Asimismo para la prevención de la gripe en mujeres gestantes o con probabilidad de estarlo, que hayan tenido contacto estrecho con casos confirmados o sospechados, se recomienda hacer una valoración individual de beneficios y riesgos sobre la necesidad de tratamiento.

La duración recomendada del tratamiento es de 5 días y de la quimioprofilaxis 10 días.

La posología recomendada para el tratamiento y profilaxis en mujeres embarazadas es la misma que para los adultos:

**Tratamiento:** Oseltamivir 75 mg dos veces al día o Zanamivir 10 mg dos veces al día.

La biodisponibilidad de Zanamivir es muy baja, de ahí que se recurra a la vía inhalatoria para su administración. Este hecho indica que la exposición sistémica a Zanamivir es considerablemente más baja que a Oseltamivir y, por tanto, la exposición fetal. Esto lo haría aparentemente preferible en mujeres gestantes, pero precisamente debido a esta razón algunos expertos consideran que en caso de afectación sistémica importante para la madre, el Oseltamivir podría ofrecer ventajas y sería el antiviral más recomendable.

**Profilaxis postexposición:** Preferentemente Zanamivir 10 mg por día. Si existen problemas respiratorios que desaconsejan la vía inhalatoria, Oseltamivir 75 mg por día.

Se desconoce si existe un riesgo de transmisión de influenza porcina a través de la leche materna. Se sabe que en algunas especies ambos medicamentos pasan a la leche materna pero se desconoce si esto ocurre igual en humanos. Las extrapolaciones que se han realizado indican que la cantidad que pasa al lactante es muy baja (0,01 mg/día y 0,03 mg/día de Oseltamivir y su metabolito activo, respectivamente).

Para el caso de uso en pediatría, los niños menores de 1 año enfrentan un riesgo más elevado de sufrir complicaciones por la influenza, en particular los menores de 6 meses.

Dado el riesgo de la influenza en niños pequeños y la escasez de datos con Oseltamivir, los niños menores de 1 año deben ser tratados bajo estricta supervisión médica y los menores de 3 meses en el ámbito hospitalario.

No se recomienda la quimioprofilaxis en menores de 3 meses a menos que la situación se considere crítica.

La posología recomendada en niños menores de 1 año para el Oseltamivir es:

**Tratamiento:** 2-3 mg/kg 2 veces al día.

**Profilaxis postexposición:** 2-3 mg/kg 1 vez al día.



## EMBARAZO Y LACTANCIA FRENTE A LA GRIPE A (H1N1)



**SI ESTÁS EMBARAZADA, NO DEJES DE HACERTE LOS CONTROLES MENSUALES Y ANTE EL MENOR SÍNTOMA DE GRIPE, ANDÁ RÁPIDAMENTE AL HOSPITAL O A LA MATERNIDAD PARA HACERTE VER.**

### **¿Cómo alimentar al bebé?**

La leche materna es lo mejor para que tu bebé adquiera defensas ante enfermedades. Por eso, si estás enferma, no dejes de amamantarlo. Si tenés síntomas de gripe consultá inmediatamente al médico.

### **¿Cuáles son las medidas al amamantar si estás enferma de gripe?**

- 1- Usá barbijo tapando tu boca y nariz.
- 2- Lavate las manos con agua y jabón, antes de ponerlo al pecho.
- 3- Tratá de que una persona sana, familiar o amiga, cambie y cuide al bebé.

Al cumplir 48 horas de tratamiento o 7 días de enfermedad, ya no contagiás y podrás recuperar el tiempo de contacto con tu bebé.

**Amamantar salva vidas, siempre.**

INFORMES: [www.msal.gov.ar](http://www.msal.gov.ar)

**0800.222.1002**

Las medidas de prevención, nos protegen a todos.

### ¿Cómo se transmite la Gripe A?

- Por el contacto directo con una persona enferma.
- Por las microgotas de la tos o el estornudo de personas infectadas.
- Al tocar superficies contaminadas como picaportes, barandas o canillas.
- Al tocarse los ojos, la nariz o la boca luego de estar en contacto con elementos o personas infectadas

### ¿Cómo alimentar al bebé?

- **La leche materna es lo mejor para que el bebé adquiera defensas ante enfermedades.** Esto es muy importante para los bebés pequeños cuyas defensas todavía están en desarrollo.
- **No deje de alimentarlo con su leche.**
- **Si usted tiene síntomas de gripe,** consulte inmediatamente al médico, tome la medicación que le indiquen e implemente medidas de prevención al amamantarlo:
  - 1) Use barbijo, tapando boca y nariz.
  - 2) Lávese cuidadosamente las manos con agua y jabón antes de ponerlo al pecho.
  - 3) Trate de que una persona sana, familiar o amiga cambie y cuide al bebé.
- Al cumplir 48 horas de tratamiento o 7 días de enfermedad usted ya no contagia y podrá recuperar el tiempo de contacto con su bebé.

**Amamantar salva vidas, siempre.**



**CÓMO PREVENIR LA GRIPE A EN LA MUJER EMBARAZADA.**  
Evitar la propagación de la Gripe A H1N1 es responsabilidad de todos.

INFORMES: [www.msal.gov.ar](http://www.msal.gov.ar)  
**0800.222.1002**  
Las medidas de prevención, nos protegen a todos.




### ¿Cómo prevenir la Gripe A en la mujer embarazada?

**Las mujeres embarazadas son más vulnerables a enfermarse, tanto de Gripe A (H1N1) como de gripe estacional, por lo cual se recomienda:**

- Continúe con los controles de embarazo.
- Evite el contacto con personas enfermas.
- Si tiene contacto cercano con una persona que padece Gripe A (H1N1) o que está recibiendo tratamiento, usted debe consultar rápidamente a su médico.
- A partir del cuarto mes de embarazo debe recibir la vacuna antigripal para gripe estacional.

### ¿Cuáles son los síntomas más frecuentes?

- **FIEBRE MAYOR A 38° C**
- **TOS.**
- **DOLOR DE GARGANTA.**
- **DOLOR DE CUERPO.**
- **ESCALOFRÍOS, FATIGA Y DECAIMIENTO.**
- **EN ALGUNOS CASOS, VÓMITOS Y DIARREA.**

### ¿Qué hacer ante la aparición de estos síntomas?

**CONSULTE RÁPIDAMENTE AL MÉDICO.**

- No concurra al trabajo o la escuela. Limite el contacto con otras personas.
- Si usted tiene o ha tenido otras enfermedades, (asma, cardiopatía, tabaquismo, inmunospresión, tratamientos con corticoides, enfermedades renales, hepáticas, diabetes, VIH-SIDA, etc.) debe extremar las medidas de prevención.
- No se automedique.
- Mantenga los ambientes limpios y ventilados.
- Salude sin dar la mano ni besos.
- Aliméntese bien, tome abundante líquido y duerma lo suficiente y necesario.




### Medidas de higiene

**Lávese las manos a menudo, con agua y jabón.**

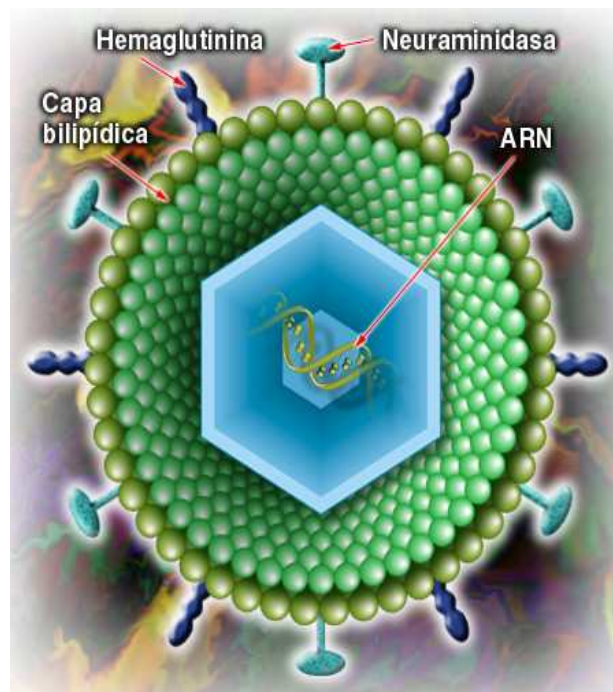
- Use agua limpia. Lávese durante 30 segundos, frotándose bien los dedos con abundante espuma.
- Si utiliza alcohol en gel, no le agregue agua y frótese las manos con el gel hasta que se sequen.
- Evite tocarse los ojos, la nariz o la boca.
- Cuando tosa o estornude, cúbrase la nariz y la boca con un pañuelo descartable o estornude sobre su manga.
- Preste especial atención al lavado frecuente de las manos de los bebés y niños.
- No deje que otros adultos se lleven a la boca, antes de dárselos a su bebé, los chupetes, cucharas, mordillos, tetinas y otros artículos.



## Conocé un poco más sobre Influenza

### Generalidades de la Influenza

La influenza es una enfermedad de transmisión aérea causada por un virus RNA, perteneciente a la familia Ortomixoviridae. Se conocen tres tipos: A, B y C; el virus A presenta dos subtipos que en la actualidad circulan en humanos (H1N1 y H3N2). Para los virus influenza tipos B y C no se han descrito subtipos y sólo circulan en humanos. Su alta transmisibilidad en épocas epidémicas ocasiona altas tasas de incidencia, (que alcanza del 10 al 20 % de la población) y la principal complicación son las neumonías de etiología viral, bacteriana o mixtas las que se presentan con mayor frecuencia en gerontes, menores de 5 años y en pacientes con patologías crónicas (cardíacas, pulmonares, renales, metabólicas) o inmunosuprimidos, este grupo puede incrementar la tasa de mortalidad.



### Potencial epidémico

Su elevado potencial epidémico se debe a:

1. Su habilidad para generar variaciones antigénicas eludiendo la respuesta inmune que el hospedador tenía por infecciones previas, posibilitando su emergencia. Los mecanismos que producen estas variaciones son dos:

a) El cambio antigénico menor o *"drift"*, ocurre en los tres tipos de virus. La ARN polimerasa introduce errores durante el proceso de replicación (en el orden de 1:10.000 nucleótidos) del genoma viral. Estos errores se traducen en cambios de aminoácidos principalmente en los sitios antigénicos, de las moléculas de H y N debido a la presión inmunológica del hospedador, dado que estos son los principales antígenos que reconoce el sistema inmune. Este mecanismo permite la

constante evolución del virus generando las cepas epidémicas dentro de un mismo subtipo.

**b)** El cambio antigénico mayor o *“shift”* produce una modificación más importante en el genoma viral. Esta variación es exclusiva del virus tipo A como consecuencia de su genoma segmentado y de su circulación en diferentes especies animales, lo cual puede generar la recombinación de genes (*“reassortment”*), es decir el intercambio de genes completos durante la coinfección de una misma célula con una cepa humana y otra animal. El otro mecanismo es la infección de humanos por virus aviares. Esto puede generar la emergencia de un virus de influenza A con un subtipo diferente de hemaglutinina al circulante en humanos que puede tener potencial pandémico.

**2.** Transmisibilidad elevada por mecanismo directo (vía aérea por pequeñas y grandes gotas), potenciada en ambientes cerrados, propios de la estación fría, también debe considerarse la forma indirecta a través de objetos contaminados. El período de transmisibilidad es de 3 a 5 días a partir del comienzo de los síntomas y hasta 7 en niños de corta edad. Período de incubación breve 1-3 días.

**3.** Reservorio: En las infecciones humanas el principal reservorio es el hombre infectado. Las aves salvajes acuáticas han sido fuente de todas las cepas que circularon hasta el presente y son el reservorio natural de todos los subtipos que pueden infectar al hombre. Existen descritas quince H y nueve N, todas han circulado en aves salvajes acuáticas y algunas en cerdos, equinos, ballenas y otros mamíferos. En humanos solo circularon tres H (H1,H2,H3) y dos N (N1,N2). Los cerdos pueden ser intermediarios entre aves y humanos por contar con los receptores celulares para ambos tipos de virus y por coinfección generar nuevos virus influenza capaces de infectar humanos.

## CASO CLÍNICO N°3

Un recién nacido debe recibir las vacunas obligatorias de los 2 meses.

a) Explique brevemente que vacunas recibe: vía de administración-dosis. Justifique.

Recién Nacidos:

BCG → Única dosis (antes de egresar de la maternidad)  
Hepatitis B → 1° Dosis (en las primeras 12 horas de vida)

2 Meses:

\*Pentavalente DPT-Hib-HB → 1° Dosis  
Sabin → 1° Dosis

\*DPT-Hib-HB Pentavalente: Difteria, tétanos, pertussis, Hep B, *Haemophilus influenzae b*. *Los nacidos después de Febrero de 2009 reciben la vacuna pentavalente al iniciar el esquema (a los 2-4-6 meses de vida), reemplazando a la cuádruple y Hepatitis B. El esquema se completará con cuádruple y triple a los 18 meses e ingreso escolar respectivamente.*

### Vacuna BCG (Antituberculosa)

La vacuna BCG protege contra la tuberculosis, y es efectiva y segura para prevenir las formas severas de la enfermedad.

Está compuesta por una suspensión de *bacterias vivas atenuadas*, denominadas bacilos de Calmette Guerin (BCG), en homenaje a sus descubridores.

### Esquema

La primera dosis puede administrarse desde el nacimiento, siempre que el peso del bebé supere los 2kg. A partir del 22/02/07, el Calendario de Vacunación Oficial de nuestro país contempla sólo la dosis de recién nacido (resolución 195/07).

Dosis: 0,1 mL.

### Forma de aplicación

Esta vacuna se aplica en la parte superior del brazo derecho, en forma intradérmica, lo que provoca la aparición de una pequeña elevación en la piel, inmediatamente después de la vacunación.

## Vacuna Antihepatitis B

Esta vacuna protege contra la hepatitis B, una enfermedad infecciosa que causa inflamación en el hígado. En algunos casos, esta infección puede evolucionar a hepatitis crónica, cirrosis o cáncer de hígado, especialmente cuando la infección se produce en edades tempranas de la vida. La vacuna es elaborada por métodos de *ingeniería genética*, y es altamente segura y eficaz. Existe la posibilidad de administrarla sola, o bien combinada con la vacuna antihepatitis A. Otra combinación posible es la vacuna séxtuple (cuádruple acelular + salk + hepatitis B)

## Esquema

El esquema de vacunación consiste en la aplicación de tres dosis.

En recién nacidos, se recomienda aplicar la primera dosis al nacer y las siguientes dosis a los 2 y 6 meses de vida.

## Forma de aplicación

Se aplica por vía intramuscular en la región anterolateral del muslo a los bebés que no caminan, y en el brazo a los niños que deambulan y a los adultos.

## Pentavalente celular (cuádruple + HB): DTP + Hib + hepatitis B

Protege contra difteria, tos ferina, tétanos, hepatitis B e infecciones invasivas por *Haemophilus influenzae* tipo b. Se aplica a niños menores de 2 años, con un esquema de 3 dosis, a los 2, 4 y 6 meses de edad, intramuscular profunda, en la cara anterolateral externa del muslo en los menores de un año, si es mayor de un año, en la región deltoidea o en el cuadrante superior externo del glúteo.

**Dosis:** 0,5 mL.

## Vacunas Antipoliomielíticas Sabin y Salk

Existen dos tipos de vacunas antipoliomielíticas: una se administra por vía oral, y contiene *virus vivos atenuados*, y la otra se aplica por vía inyectable, y se elabora con *virus inactivados*. Estas vacunas son también conocidas como Sabin y Salk respectivamente, como homenaje a sus creadores.

Ambas vacunas son muy eficaces y proveen protección duradera.

La vacuna inyectable puede ser administrada sola o combinada con las vacunas DPaT y antihaemophilus influenzae tipo b, con las que conforma la vacuna quíntuple; otras combinaciones posibles son la vacuna séxtuple (cuádruple acelular + Salk + hepatitis B) y la tetravalente (triple bacteriana acelular y antipoliomielítica inactivada indicada generalmente para la vacunación del ingreso escolar).



## Esquema

Nuestro calendario nacional de inmunizaciones contempla tres dosis durante el primer año de vida, a los 2, 4, y 6 meses de edad, un refuerzo a los 18 meses y otro refuerzo a los 6 años de edad. El intervalo mínimo aconsejado entre una dosis y otra, debe ser mayor de un mes y medio para la oral, y de un mes para la inyectable.

Para los esquemas de inmunizaciones, en nuestro país se recomienda la vacuna oral. Sin embargo, cualquiera de las vacunas puede utilizarse en forma indistinta.

**Dosis:** 0,1 mL (2 gotas).

## Forma de aplicación

La vacuna Sabin se administra por vía oral; es aconsejable cumplir un ayuno media hora antes y después de la vacunación. En el caso de que la vacuna fuera vomitada o regurgitada dentro de los 10 minutos posteriores a la vacunación, podrá intentarse su administración una vez más en ese mismo día y, si no pudiera ser tolerada, intentarlo nuevamente en los días subsiguientes.

La vacuna Salk se aplica en forma intramuscular en la región anterolateral del muslo a los bebés que no caminan, y en el brazo a los niños que deambulan y a los adultos.

**b) ¿Qué tipo de antígenos contienen estas vacunas? Ventajas y desventajas.**

\*BCG: bacterias vivas atenuadas

\*Hepatitis B: vacuna recombinante

\*Sabin: virus vivo atenuado

\*Pentavalente celular (cuádruple + HB): DTP + Hib + hepatitis B

-DTP: toxoide y bacterias muertas

-Tétanos: toxoide

-Hepatitis B: vacuna recombinante

-Haemophilus influenzae tipo b: polisacárido conjugado a proteína

## Vacunas clásicas

Se denominan vacunas clásicas a las vacunas inactivadas, compuestas por bacterias, virus o partes de ellos, vacunas vivas atenuadas, formadas por bacterias o virus cuya virulencia ha sido reducida, y vacunas de subunidades que consisten en fragmentos de proteínas antigénicas pertenecientes a patógenos.

## Vacunas vivas atenuadas

La principal característica de las vacunas vivas consiste en que los agentes inmunizantes pueden replicarse en el organismo sin causar la enfermedad. Estas vacunas proporcionan en teoría una vacunación ideal de larga duración y muy intensa, ya que dan lugar a una infección similar a la natural. Sin embargo, plantean un riesgo al estar formadas por microorganismos vivos, ya que es posible que éstos mantengan su actividad patógena y desencadenen la enfermedad. La atenuación de los microorganismos debe ser por tanto lo suficientemente fuerte para que no se produzca la enfermedad, pero sin llegar a destruir los componentes inmunogénicos desencadenantes de la respuesta inmune.

A pesar del alto grado de atenuación que se consigue en las vacunas de este tipo, su aplicación se encuentra contraindicada en pacientes con inmunodeficiencias primarias o secundarias o bien que tengan un estado de inmunosupresión provocado por fármacos o enfermedades oportunistas, asimismo, estas vacunas están contraindicadas en mujeres embarazadas.

## Vacunas inactivadas

Las vacunas inactivadas son aquellas que contienen microorganismos enteros o toxinas, inactivados mediante diversos métodos físicos y químicos.

En comparación con las vacunas atenuadas, la principal ventaja de las vacunas inactivadas es que no existe el riesgo de desencadenar la enfermedad tras la vacunación. Esto es debido a que los microorganismos que forman parte de la vacuna están muertos, y tan sólo se mantienen intactas las subunidades proteicas responsables de la inmunidad.

A diferencia de las vacunas vivas atenuadas, la respuesta inmunitaria provocada por las vacunas inactivadas suele ser menos intensa y duradera, prevaleciendo la respuesta de tipo humoral, es decir, la producción de anticuerpos. Otra desventaja de estas vacunas consiste en la necesidad de administrar varias dosis de recuerdo para conseguir una inmunización completa.

Por otra parte, es frecuente la adición de adyuvantes en las vacunas inactivadas, que actúan a modo de potenciadores. En el caso de las vacunas bacterianas inactivadas, dado que no son sometidas a ningún tipo de purificación, contienen todos los componentes bioquímicos de las bacterias, lo que hace que por lo general sean más reactógenas que las vacunas de subunidades, es decir, provocan más efectos secundarios. Las vacunas virales inactivadas son menos sensibles a cambios de temperatura que las vacunas víricas atenuadas, sin embargo, son más caras que las vacunas virales vivas atenuadas, ya que al no replicarse el virus en el paciente se requiere más cantidad de antígeno y dosis de refuerzo para conseguir una respuesta inmune duradera.

## Vacunas de subunidades

Las vacunas de subunidades son aquellas que contienen un preparado de subunidades antigénicas que pueden ser de distinta naturaleza, lipopolisacáridos, extractos ribosómicos, o proteínas purificadas o sintetizadas químicamente. Estas vacunas se suelen emplear cuando han sido aislados los componentes responsables de la patogenicidad del agente infeccioso, ya que de esta forma se evita el riesgo de desencadenar la enfermedad tras la vacunación.

### c) Si el niño tiene una ID (Inmunodeficiencia) ¿Están contraindicadas?

Las vacunas vivas pueden causar reacciones severas en pacientes con inmunocompromiso. La replicación del virus de la vacuna se puede descontrollar y causar enfermedad. Por eso los pacientes con algún grado de inmunocompromiso (enfermedades tales como leucemia, linfoma, inmunodeficiencias, etc.) no pueden recibir vacunas vivas. Las vacunas inactivas no se replican, por eso son seguras para usar en estos pacientes. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la respuesta a la vacuna puede ser pobre y estos pacientes no están totalmente protegidos. Algunas drogas pueden traer inmunosupresión tales como el uso de quimioterapia o corticoides. Los pacientes que reciben estas drogas NO pueden recibir vacunas vivas.

## BCG

No deben recibir esta vacuna las personas con alteración de la inmunidad ni aquellas en tratamiento con drogas que alteren la inmunidad, como por ejemplo corticoides en altas dosis por tiempo prolongado o quimioterapia.

## Pentavalente celular (cuádruple + HB): DTP + Hib + hepatitis B

Está contraindicada en inmunodeficiencias, a excepción de la infección por VIH/SIDA.

## Sabin

Dado que la vacuna Sabin contiene virus vivos atenuados, no debe ser administrada a:

- \*Personas con alteración de la inmunidad ni a aquellas en tratamiento prolongado con drogas que alteren la inmunidad, como por ejemplo corticoides en altas dosis por períodos prolongados o quimioterapia.

- \*Individuos que viven con personas con alteración de la inmunidad, ya que el virus de la vacuna se elimina a través de la materia fecal del vacunado, lo que podría llegar a afectar al conviviente inmunocomprometido.

- \*La vacuna Salk es recomendada en todos los casos en que está contraindicada la Sabin, por no contener virus vivos en su composición.

## Conociendo un poco más...

### Aspectos generales sobre inmunización

#### 1. Definiciones

- **Inmunización:** acción de conferir inmunidad mediante la administración de antígenos (inmunidad activa) o mediante la administración de anticuerpos específicos (inmunidad pasiva).
- **Efectividad vacunal:** efecto directo de la vacuna más el efecto indirecto aportado por la inmunidad colectiva.
- **Eficacia vacunal:** grado de protección contra una infección conferida por una vacuna, determinado por un ensayo clínico randomizado y controlado.
- **Primo-vacunación:** serie de dosis de una misma vacuna que se administra a una persona susceptible para conferir inmunidad frente a una enfermedad.
- **Refuerzo:** es la re-exposición al mismo antígeno al cabo de un tiempo, la cual induce una respuesta inmune secundaria más intensa y duradera que la primaria, con un período de latencia más corto.
- **Re-vacunación:** administración de un inmunógeno o vacuna que había sido administrada previamente y falló en la respuesta inmune primaria.
- **Fallo vacunal primario:** falta de respuesta inmune humoral (seroconversión) inicial a la vacuna.
- **Adyuvante:** sustancia que se administra junto a un antígeno para aumentar de forma inespecífica la respuesta inmunitaria al mismo.
- **Conservante:** sustancia utilizada para prevenir la alteración de un producto biológico y facilitar su conservación (vida útil).
- **Vacuna adsorbida:** los antígenos están fijados a la superficie de un adyuvante (fosfato o hidróxido de aluminio), lo cual aumenta el poder inmunogénico de la vacuna, ya que retarda la liberación de antígeno en el sitio de inyección, estimula la producción de algunas citoquinas y da lugar a una respuesta más intensa de las células T.
- **Inmunidad colectiva o de grupo o de rebaño:** estado de inmunidad en la población que previene la presentación de epidemias al impedir o dificultar, por la cantidad de personas inmunes, la circulación del agente causal. La protección colectiva comporta un menor riesgo para todo el grupo y no sólo para los vacunados. Constituye el fundamento de los programas de vacunación.

- **Vacuna combinada:** contiene antígenos de varios agentes infecciosos, o diferentes serotipos/serogrupos de un mismo agente, que se aplican en una sola administración.

## 2. Factores que intervienen en la respuesta inmunitaria a la vacunación

**A. Respuesta primaria:** es la respuesta inmunitaria que sigue a la primera exposición frente a un agente inmunógeno. Puede dividirse en cuatro periodos:

a) **Periodo de latencia:** tiempo transcurrido entre la exposición al antígeno y la aparición de anticuerpos en suero: 5 a 10 días (7 de promedio).

b) **Fase exponencial:** aumenta la concentración de anticuerpos en el suero.

c) **Fase de meseta:** el título de anticuerpos permanece estable.

d) **Fase de declinación:** la concentración de anticuerpos en suero decrece progresivamente.

**B. Respuesta secundaria:** la reexposición al mismo inmunógeno induce una respuesta más intensa y duradera. El periodo de latencia es más corto (1 a 3 días).

Estas respuestas dependen de varios factores:

1. Presencia o ausencia de anticuerpos maternos
2. Naturaleza y dosis del antígeno administrado
3. Modo de administración de la vacuna
4. Utilización o no de un adyuvante
5. Utilización o no de una proteína transportadora (carrier)
6. Edad
7. Estado nutricional
8. Condición del huésped

Intervienen también otros factores ligados al huésped, tales como la constitución genética y la presencia de patología concomitante.

1. Las inmunoglobulinas circulantes al nacimiento son esencialmente IgG de origen materno, constituidas por anticuerpos antivirales y antibacterianos que tienen un rol protector mayor en los primeros meses de vida. Estos anticuerpos desaparecen desde la edad de 5 meses; en algunos casos persiste una débil concentración hasta los 9 meses y aún hasta el año. La edad de vacunación debe considerarse con relación a la desaparición de los anticuerpos maternos, sobre todo en lo referente a las vacunas virales atenuadas: antisarampionosa, antirubeólica, antiparotiditis y antivaricela.

2. La calidad antigénica de las vacunas varía en gran medida según estén constituidas por bacterias o virus atenuados o inactivados. La estructura del

antígeno interviene en la respuesta inmune y la dosis administrada puede influir en la respuesta de anticuerpos.

### 3. Los antígenos contenidos en las vacunas se administran por diferentes vías:

- Las vacunas adsorbidas en sales de aluminio (adyuvante) se aplican de rutina por vía intramuscular.
- Las vacunas fluidas (sin adyuvante) de cualquier naturaleza (suspensiones bacterianas, virus vivos atenuados, virus muertos y polisacáridos purificados) se pueden inyectar por vía intramuscular o subcutánea, excepto la vacuna BCG, que se inocula por vía intradérmica en forma estricta.
- Otras vacunas a virus vivos atenuados, como la poliomielítica oral (OPV) y a bacterias vivas atenuadas, como la vacuna antifebri tifoidea Ty21a y la vacuna anticolérica, se administran por vía oral.

4. Los adyuvantes tienen una actividad inmunoestimulante sin ser inmunogénicos; los más ampliamente utilizados son los compuestos de aluminio (hidróxido y fosfato). Permiten la obtención de títulos más elevados de anticuerpos con una cantidad menor de antígeno y un número más reducido de dosis.

5. La conjugación de algunas vacunas (*Haemophilus influenzae* b, neumococo, meningococo) con una proteína transportadora permite una respuesta inmunológica T-dependiente en niños menores de 2 años, que por su edad no responden a las vacunas no conjugadas que activan solo el sistema T-independiente.

6. Varios factores intervienen para determinar la edad de vacunación. Estos incluyen: riesgos específicos de enfermar según grupo de edad, epidemiología de la enfermedad, madurez del sistema inmune, capacidad para responder a una vacuna específica y a la interferencia por inmunidad pasiva transferida por la madre. En niños prematuros, aunque la respuesta a la vacuna es variable, se deben aplicar las vacunas correspondientes a la edad al momento de la vacunación, sin tener en cuenta ningún tipo de ajuste en cuanto a su edad por el antecedente de su prematurez.

7. **El estado nutricional:** la desnutrición calórico-proteica severa determina en el niño cambios en el sistema inmunitario, provocando disminución de la inmunidad celular y reducción de la concentración de los complementos (excepto C4) así como de la IgA secretoria; por el contrario, no hay modificaciones aparentes de la inmunidad humoral y la concentración sérica de IgM e IgG son normales. Los estudios efectuados después de la vacunación con vacunas virales o bacterianas no han presentado una disminución aparente de la síntesis de anticuerpos.



La obesidad altera la calidad de la respuesta inmune al igual que determinados hábitos, como por ejemplo el tabaquismo.

**8. Condición del huésped:** las vacunas vivas pueden causar reacciones severas en pacientes con inmunocompromiso. La replicación del virus de la vacuna se puede descontrolar y causar enfermedad. Por eso los pacientes con algún grado de inmunocompromiso (enfermedades tales como leucemia o linfoma) no pueden recibir vacunas vivas. Las vacunas inactivas no se replican, por eso son seguras para usar en estos pacientes. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la respuesta a la vacuna puede ser pobre y estos pacientes no están totalmente protegidos. Algunas drogas pueden traer inmunosupresión tales como el uso de quimioterapia o corticoides. Los pacientes que reciben estas drogas NO pueden recibir vacunas vivas.

### 3- Tipos de vacunas

**Vacunas a agentes vivos atenuados:** contienen microorganismos atenuados en sucesivos pasajes por cultivos.

**Vacunas a agentes inactivados:** contienen microorganismos tratados por medios físicos o químicos para eliminar su infectividad, manteniendo su capacidad inmunogénica.

**Toxoide:** toxina bacteriana modificada para eliminar sus propiedades deletéreas, que retiene la propiedad de estimular la formación de antitoxinas al ser aplicada al hombre.

**Vacunas conjugadas:** teniendo en cuenta que el polisacárido capsular de algunos microorganismos (*Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*) es escasamente inmunogénico en niños menores de 2 años, se lo une a una proteína transportadora para obtener una vacuna inmunogénica en menores de esa edad.

**Vacunas de ingeniería genética:** aislamiento de material genético, que unido a un vector resulta en un recombinante que una vez inoculado es inmunogénico.

### 1. Vacunas bacterianas

- **Vivas atenuadas:** BCG, fiebre tifoidea oral, colérica oral.
- **Inactivadas:** pertussis, pertussis acelular, fiebre tifoidea parenteral.
- **Toxoides:** diftérico, tetánico.
- **Polisacáridos:** meningococo AC, meningococo W135, meningococo Y, neumococo.

- **Polisacáridos conjugados:** Haemophilus influenzae b (Hib), neumococo, meningococo C.
- **Proteínas de membrana externa:** meningococo B.

## 2. Vacunas virales

- **Vivas atenuadas:** sarampión, rubéola, parotiditis, poliomielítica oral, fiebre amarilla, varicela.
- **Inactivadas:** poliomielítica inyectable, influenza, hepatitis A, rabia.
- **Recombinante:** hepatitis B.
- **Subunidad viral:** algunas vacunas contra influenza.

## 3. Vacunas combinadas

- **Doble viral (SR):** sarampión + rubéola.
- **Triple viral (SRP):** sarampión + rubéola + paperas.
- **Doble bacteriana (dT):** difteria + tétanos.
- **Triple bacteriana celular y acelular (DTP/Pa):** difteria + tétanos + pertussis.
- **Cuádruple celular y acelular (DTP/Pa + Hib):** difteria + tétanos + pertussis + Haemophilus influenzae b.
- **Quíntuple acelular (cuádruple + IPV):** DTP/Pa + Hib + poliomelitis inactivada.
- **Pentavalente celular (cuádruple + HB):** DTP + Hib + hepatitis B.
- **Séxtuple acelular:** DTPa + Hib + HB + IPV.
- **Hepatitis A + Hepatitis B.**

## Vacunas de uso frecuente y vías de administración

En la tabla se reseñan las vacunas, su constitución y la vía de administración.

Vacuna	Tipo de antígeno	Vía de administración
BCG	Bacteria viva atenuada	ID
DPT	Toxoides y bacteria muerta	IM
DTPa (acelular)	Toxoides y productos bacterianos	IM
Doble Viral (SR)	Virus vivo atenuado	SC
Hib conjugada	Polisacárido conjugado a proteína	IM
Hepatitis A	Virus inactivado	IM
Hepatitis B	Vacuna recombinante	IM
Influenza	Virus inactivado	IM
Candid #1	Virus vivo atenuado	IM
Meningococo AC	Polisacárido	IM o SC
Meningococo C conjugado	Polisacárido conjugado	IM
Triple viral (SRP)	Virus vivos atenuados	SC
Neumococo	Polisacárido	IM o SC
Neumococo conjugado heptavalente	Polisacárido conjugado	IM
Poliomielitis oral, OPV	Virus vivo atenuado	oral
Poliomielitis inactivada, IPV	Virus inactivado	IM o SC
Rabia	Virus inactivado	IM
Rotavirus	Virus atenuado o combinado	Oral
Tétanos	Toxoide	IM
Antivaricela	Virus vivo atenuado	SC
Fiebre amarilla	Virus vivo atenuado	IM o SC
Fiebre tifoidea (parenteral)	Bacteria inactivada	IM o SC
(Ty21a oral)	Bacteria viva atenuada	oral

ID: intradérmica - SC: subcutánea - IM: intramuscular

CALENDARIO NACIONAL DE VACUNACIÓN DE LA REPUBLICA ARGENTINA Actualización 2009

VACUNAS EDAD		BCG (1)	Hepatitis B HB (2)	Pentavalente DPT-Hib-HB (3)	Cuádruple (DPT-Hib) (4)	Sabin (OPV) (5)	Triple Viral (SRP) (6)	Hepatitis A (HA) (7)	Triple Bacteriana Celular (DPT) (8)	Triple Bacteriana Acelular (dTpa) (9)	Doble Bacteriana (dT) (10)	Doble Viral (SR) (11)	Anti-amarillca (FA) (12)	Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA) (13)
Recién nacido		Única Dosis *	1ª Dosis **											
MESES	2			1ª Dosis		1ª Dosis								
	4			2ª Dosis		2ª Dosis								
	6			3ª Dosis		3ª Dosis								
	12						1ª Dosis	Única dosis					Una dosis	
	18				4ª Dosis	4ª Dosis								
AÑOS	6 o Ingreso escolar					Refuerzo	2ª Dosis		Refuerzo					
	11		Iniciar o completar esquema ***				Iniciar o completar esquema ****		Refuerzo					
	A partir de los 15													Única dosis
	16									Refuerzo *****				
	Cada 10 años									Refuerzo #			Refuerzo	
Puerperio o post-aborto inmediato												Única dosis *****		

* Antes de egresar de la maternidad.														
** En las primeras 12 horas de vida.														
*** Si no hubiera recibido el esquema completo. Aplicar 1ª dosis, 2ª dosis al mes de la primera y la 3ª dosis a los 6 meses de la primera.														
**** Si no hubiera recibido dos dosis de triple viral o una de Triple viral más 1 dosis doble viral														
***** Es solo para aquellos que iniciaron el esquema con DPT, al grupo que ingresó en el plan con dPaT les corresponderá este refuerzo a los 21 años (o sea cada 10 años)														
⚙ En embarazadas aplicar vacuna dT a partir del 2º trimestre de embarazo; 1ra., 2da. dosis o refuerzo														
(1) BCG:Tuberculosis														
(2) HB Hepatitis B														
(3) DPT-HB-Hib:Pentavalente Difteria, tétanos, pertussis, Hep B, Haemophilus influenzae b. Los nacidos despues de Febrero de 2009 recibirán la vacuna pentavalente al iniciar el esquema (a los 2-4-6 meses de vida), reemplazando a la cuádruple y Hepatitis B. El esquema se completara con cuádruple y triple a los 18 meses e ingreso escolar respectivamente.														
(4) DPTHib : (Cuádruple) difteria, tétanos, pertussis, Haemophilus influenzae b.														
(5) OPV: (Sabin): vacuna antipoliomielítica oral.														
(6) SRP: (Triple viral): sarampión, rubéola, parotiditis.														
(7) HA (Hepatitis A) una sola dosis.														
(8) DPT: (Triple bacteriana): difteria, tétanos, pertussis.														
(9) dTpa (Triple Bacteriana Acelular) a los 11 años o para completar esquemas interrumpidos en niños mayores de 7 años														
(10) dT (Doble bacteriana): difteria, tétanos.														
(11) SR.: (Doble viral): sarampión, rubéola.														
(12) FA: Fiebre amarilla: una dosis para residentes o viajeros a zonas de riesgo. Refuerzo cada diez años.														
(13) FHA: Fiebre hemorrágica argentina: una dosis para residentes o viajeros a zonas de riesgo.														