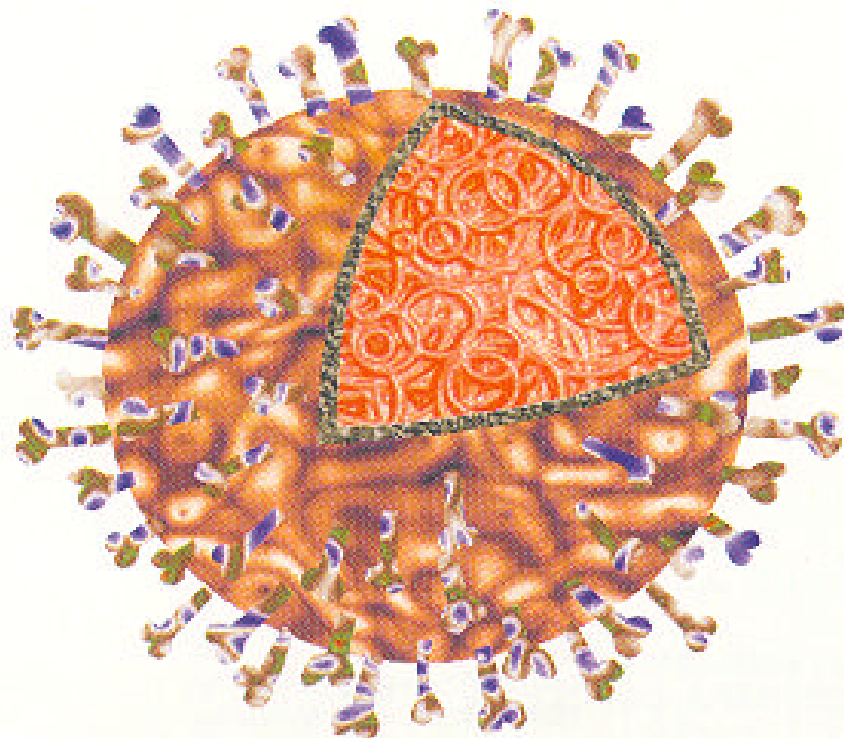


DENGUE Y FIEBRE AMARILLA

Guías de Práctica Clínica Basadas en la Evidencia

PROYECTO ISS-ASCOFAME



Dra. Victoria Inés Bedoya
Dr. Erik Hendrikx M.
Dra. Ana Lucía Correa A.
Dra. Judith Trujillo Pérez.



AUTORES DE LA GUÍA

Dra. VICTORIA INÉS BEDOYA, MD
Especialista en Microbiología y Parasitología Médicas
Jefe Unidad de Virología Corporación para Investigaciones Biológicas-CIB
Docente Facultad de Medicina
Universidad Pontificia Bolivariana
Coordinadora Guía de Práctica Clínica

Dr. ERIK HENDRICKX, MD
Médico Epidemiólogo con Maestría en Medicina Tropical
Jefe Unidad de Epidemiología CIB

Dra. ANA LUCÍA CORREA ANGEL, MD
Especialista en Medicina Interna e Infectología
Infectóloga Instituto de Seguro Social-ISS León XIII

Dra. JUDITH TRUJILLO PÉREZ
Bacterióloga y Laboratorista Clínica
Docente Asociada Facultad de Medicina
Universidad Pontificia Bolivariana

COORDINACION Y ASESORIA

Dr. ALVARO ECHEVERRI BUSTAMANTE
Decano Facultad de Medicina
Universidad Pontificia Bolivariana

Dr. MARTHA HELENA BETANCUR GÓMEZ
Vicedecana Académica
Facultad de Medicina
Universidad Pontificia Bolivariana
Coordinadora Guías UPB

Dr. JOSÉ G. RIGAU PÉREZ, MD, MPH
Chief Epidemiology Unit
Dengue Branch, Division of Vector-borne Infectious Diseases
Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
National center for Infectious Diseases, Puerto Rico
Asesor Internacional en Dengue

Dr. THEODORE F. TSAI, MD, MPH
Medical Officer
Division of Vector-borne Infectious Diseases
Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
Estados Unidos
Asesor Internacional en Fiebre Amarilla

Indice

INTRODUCCIÓN GENERAL	5
I. DENGUE	6
1.1 INTRODUCCIÓN.	6
1.2 ETIOLOGÍA	7
1.3 EPIDEMIOLOGÍA.	8
1.3.1 Reservorio y transmisión.	8
1.3.2 Los vectores	8
1.3.3 Inmunidad.	10
1.3.4 Importancia del dengue.	10
1.3.4.1 Dengue a nivel mundial.	10
1.3.4.2 Dengue en Colombia.	11
1.3.4.2.1 Dengue clásico.	11
1.3.4.2.2 Dengue hemorrágico.	11
1.3.4.2.3 Evolución anticipada del dengue.	12
1.3.5 Factores de riesgo para la FHD/SCD	12
1.4 PATOGÉNESIS.	13
1.4.1 Patogénesis de DC.	13
1.4.2 Patogénesis de FHD/SCD	14
1.5 ESPECTRO CLÍNICO	15
1.5.1 Fiebre indiferenciada.	15
1.5.3 Dengue hemorrágico.	18
1.5.3.1 Clasificación de la gravedad del dengue hemorrágico.	19
1.5.4 Definiciones de los criterios para el diagnóstico clínico del dengue hemorrágico/síndrome de choque por dengue.	20
1.5.4.1 Datos Clínicos.	20
1.5.4.2 Datos de Laboratorio	20
1.6 TRATAMIENTO.	21
1.6.1 Manejo del dengue hemorrágico	21
1.6.2 Manejo del síndrome de choque por dengue.	22
1.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	25
1.8 DIAGNÓSTICO	25
1.8.1 Parámetros de laboratorio clínico	25
1.8.2 Diagnóstico de infección por el virus del dengue	27
1.8.2.1 Muestras.	28
1.8.2.2 Diagnóstico serológico	28
1.8.2.3 Diagnóstico virológico.	31
1.8.3.1 Caso confirmado.	33
1.8.3.2 Caso primario confirmado.	34
1.8.3.3 Caso secundario confirmado.	34
1.8.3.4 Caso probable de dengue.	34

1.8.3.5 Casos negativos.	34
1.8.3.6 Casos no interpretables	34
1.9 PREVENCIÓN Y CONTROL	36
1.9.1 Desarrollo de vacunas.	39
II. FIEBRE AMARILLA	43
2.1 INTRODUCCIÓN.	43
2.2 ETIOLOGÍA	43
2.3 EPIDEMIOLOGÍA.	44
2.3.1 Transmisión y reservorios.	44
2.3.2 Los vectores.	45
2.3.3 Inmunidad	46
2.3.4 Importancia de la fiebre amarilla.	47
2.3.4.1 A nivel mundial.	47
2.3.4.2 En Colombia.	48
2.3.5 Factores de riesgo.	48
2.3.6 Evolución anticipada.	49
2.4 PATOGÉNESIS	50
2.5 ASPECTOS CLÍNICOS	52
2.5.1 Período de infección	52
2.5.2 Período de remisión	53
2.5.3 Período de intoxicación	53
2.5.4 Complicaciones	54
2.6 TRATAMIENTO	54
2.6.1 Tratamiento de la falla hepática	55
2.6.2 Tratamiento del choque	55
2.6.3. Tratamiento de la hemorragia	56
2.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	56
2.8 DIAGNÓSTICO	56
2.8.1 Muestras	57
2.8.2 Histopatología	57
2.8.3 Diagnóstico serológico	58
2.8.4 Diagnóstico virológico	58
2.8.4.1 Aislamiento viral	58
2.8.4.2 Detección de proteínas	59
2.8.4.3 Detección de ácidos nucleicos	59
2.9 PREVENCIÓN	59
2.9.1 Control	61
2.9.2 Vacuna	61
2.9.2.1 Dosis	62
2.9.2.2 Reacciones	62
2.9.2.3 Precauciones y contraindicaciones	62
2.10 DEFINICIONES DE CASO DE FIEBRE AMARILLA	64
2.10.1 Caso probable	64
2.10.2 Caso confirmado	64
BIBLIOGRAFÍA	65

Abreviaturas y definiciones

ARN:	ácido ribonucleico
CID:	coagulación intravascular diseminada
DC:	dengue clásico
ELISA:	ensayo inmunoenzimático
FA:	fiebre amarilla
FHD:	fiebre hemorrágica de dengue
IHA:	inhibición de hemaglutinación
LC-95:	límites de confianza de 95%
MAC-ELISA:	ensayo inmunoenzimático de captura de anticuerpos IgM
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OPS:	Organización Panamericana de la Salud
RT- PCR:	Transcripción reversa - reacción en cadena de la polimerasa
SCD:	síndrome de choque de dengue
SN:	Sistema nervioso
TP:	tiempo de protrombina
TPT:	tiempo parcial de tromboplastina

INTRODUCCIÓN GENERAL

El dengue es una enfermedad emergente para el continente americano; comparte características similares con la fiebre amarilla: ambas son causadas por arbovirus de la familia *Flaviviridae*; su principal vector urbano es el *Aedes aegypti*; las dos se presentan como epidemias. Tanto el dengue hemorrágico por el síndrome del choque por dengue como la fiebre amarilla pueden causar tasas de letalidad altas.⁽¹⁾

Como observación general se debe decir que los niveles de evidencia descritos en la presentación de la guía difícilmente son aplicables a cualquier información epidemiológica, obtenida antes de 20 años o más. Estos niveles de evidencia están pensados para responder a las preguntas:

- ¿Qué síntomas produce esta enfermedad?
- ¿Qué tratamiento alivia este síntoma?

Esto no cubre toda la ciencia. Hay situaciones epidemiológicas que se asemejan a la astronomía: situaciones irrepetibles (una epidemia por ejemplo), no aleatorizables, estudiadas de manera muy crítica, y que rinden información sólida, indiscutible y exacta. Por ejemplo, el *Aedes aegypti* es considerado el vector principal del dengue y de la fiebre amarilla en las Américas. Esto nadie lo discutirá debido a las innumerables observaciones que en lugares donde hay *Aedes aegypti* y condiciones climatológicas favorables para estos virus, también hay transmisión de dengue y de fiebre amarilla.

Este ejemplo del vector *Aedes aegypti* muestra la existencia de un nivel de evidencia diferente a los descritos y manejados en la guía: la obtención de una conclusión idéntica mediante observaciones repetidas, en situaciones que pueden o no ser diferentes, pero que de todos modos no son aleatorizadas ni controladas (a veces tales estudios serían además inaceptables desde el punto de vista ético), llevó a una aceptación generalizada de la hipótesis de que es el *Aedes aegypti* el que transmite estas enfermedades. Este nivel de evidencia se marcará en esta guía como ** (por ejemplo: **III.3****, **III.2**** lo que se traduce como múltiples estudios de nivel III.3 o III.2, etc.).

I. DENGUE

1.1 INTRODUCCIÓN.

El dengue clásico (DC), la fiebre hemorrágica de dengue (FHD) y el síndrome de choque de dengue (SCD) son causados por los virus del dengue, los cuales pertenecen al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. Tienen al ser humano como huésped vertebrado principal y los mosquitos *Aedes* del subgénero *Stegomyia* como vectores más importantes.^(2, 3) Nivel de evidencia III.3**.

La mortalidad asociada al DC es baja, pero la letalidad del SCD oscila entre 40 a 50% sin tratamiento apropiado y se produce en las primeras 12 a 24 horas después del comienzo del choque. Con cuidados hospitalarios adecuados la mortalidad se reduce a menos del 5%.⁽³⁻⁶⁾ Nivel de evidencia III.3**.

Para estandarizar la notificación de las diferentes formas de dengue como también los grados de severidad, el Ministerio de Salud, la OMS, la OPS y el Centro de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), han recomendado definiciones de caso.^(3,7-9) Mirar numerales 1.5.4 y 1.8.3.

Muchas incertidumbres continúan alrededor de esta patología. Algunos de los obstáculos encontrados en su investigación son:

- la presencia de pocos casos de las formas severas del dengue (FHD/SCD) hace difícil conformar grupos de pacientes de tamaño adecuado para los estudios;⁽¹⁰⁾
- los casos severos suelen acudir a los servicios de salud en la fase tardía de la enfermedad, cuando el virus está desapareciendo de la circulación sanguínea;⁽¹¹⁾
- debido a los fenómenos hemorrágicos es imposible realizar procedimientos invasivos de investigación como biopsias, punciones, etc.⁽¹²⁾
- los pacientes rara vez consultan durante las infecciones no complicadas y así es difícil encontrar controles para los estudios o estimar las tasas de transmisión endémicas o epidémicas en la comunidad. Además muchas infecciones son asintomáticas y las leves fácilmente se confunden con enfermedades gripales o virales

poco específicas sin la ayuda de un laboratorio bien equipado;^(13, 14)

- las tasas de infección que se detectan en ciertos grupos comunitarios mediante estudios prospectivos difícilmente son generalizables debido a que la infestación con el vector no es uniforme;⁽¹⁵⁾
- los métodos entomológicos disponibles actualmente no permiten investigar con precisión al vector en la naturaleza (cambios en su comportamiento, mortalidad, fluctuaciones en sus tasas de infección, competencia entre los virus de la fiebre amarilla y del dengue en el mismo mosquito, etc.);^(16, 17)
- no se dispone de un modelo animal satisfactorio de la enfermedad humana.^(10, 18)

Como consecuencia no se conocen las causas de la FHD/SCD, lo que hace que difícilmente se puedan proponer e investigar tipos de tratamientos diferentes a los sintomáticos. Estos últimos se han basado con frecuencia en la experiencia clínica no cuantificada. El mismo problema se encuentra en la lucha y el control del vector donde raras veces se ha comparado la eficacia relativa de las diferentes estrategias mediante estudios controlados.

1.2 ETIOLOGÍA

Los virus del dengue poseen una molécula de ARN de cadena única, miden aproximadamente 50 nm. de diámetro.^(3, 19) El genoma codifica 3 proteínas estructurales (la proteína C de la cápside, una proteína asociada a la membrana llamada M y la proteína E de la envoltura) y 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5). La función de estas últimas no se conoce con exactitud.^(3, 19, 20)

Existen 4 serotipos del virus de dengue que son antigénicamente distintos aunque relacionados (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4). Todos los serotipos pueden causar DC, FHD o SCD.⁽²⁾ (*Nivel de evidencia III.3***). El genoma de los virus del dengue sufre mutaciones frecuentes que explican la existencia en cada serotipo de un gran número de cepas antigénicamente diferentes circulando en áreas distintas del mundo.⁽³⁾ (*Nivel de evidencia III.3***) Existen métodos que permiten clasificar esas cepas en grupos llamados «topotipos», "genotipos" o "subtipos" según el método

Dengue y Fiebre amarilla

utilizado. El serotipo DEN-1 está compuesto por 8 topotipos o 5 genotipos; el serotipo DEN-2 por 10 topotipos o 5 subtipos o 5 genotipos; el serotipo DEN-3 por 5 topotipos o 4 genotipos o 4 subtipos y el serotipo DEN-4 por 5 topotipos o 1 (ó 2) genotipos.^(3, 21-23) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺) Hasta la fecha no se han podido establecer correlaciones específicas entre las diferencias genómicas y antigénicas y la virulencia de las cepas.^(3, 21, 23) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

1.3 EPIDEMIOLOGÍA.

1.3.1 Reservorio y transmisión.

El dengue es transmitido por mosquitos infectantes cada vez que realizan un intento de picadura en un ser humano susceptible.^(17, 24) La incubación en humanos es de 3 a 14 días, por lo común de 4 a 7 días. Los enfermos suelen infectar a los mosquitos durante su fase virémica que está comprendida desde 6 a 18 horas antes del inicio de los síntomas hasta 4 a 5 días después del inicio del período sintomático, aunque puede durar hasta 12 días después del inicio de la fiebre.^(25, 26) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

Luego de una ingestión de sangre infectada, la hembra del vector puede transmitir el virus después de un período de 8 a 12 días de incubación.⁽²⁷⁾ (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). El mosquito permanece infectante el resto de su vida adulta que es en promedio de 8 a 15 días para hembras en la naturaleza (con un máximo observado de 42 días).^(16, 17, 28) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). El virus también se puede transmitir mecánicamente cuando se interrumpe la alimentación del mosquito en un huésped virémico y de inmediato el vector va y se alimenta en un huésped susceptible cercano.⁽⁹⁾ (Nivel de evidencia IV). Además se ha descrito la transmisión transovárica en el mosquito, pero se desconoce su importancia epidemiológica.^(3, 6, 9, 29-32) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

El virus se mantiene mediante un ciclo de transmisión humano-vector-humano en centros urbanos de clima tropical.^(2, 3) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

1.3.2 Los vectores

El único vector reconocido en las Américas es el *Aedes aegypti*.⁽⁹⁾ (Nivel de evidencia III.3⁺⁺) El *Aedes albopictus*, también es un vector potencial,⁽³³⁾ que ha invadido el Nuevo Mundo^(33, 34) y fue recientemente encontrado por primera vez en Colombia (Leticia,

Amazonas, marzo de 1998).⁽³⁵⁾ (Nivel de evidencia III.3⁺⁺) En América el *Aedes aegypti* muestra sinantropía (distribución determinada por el hombre) clara encontrándose solo en relación con los asentamientos humanos, ya sean urbanos, suburbanos o rurales.^(36, 37) (Nivel de evidencia IV). Se encuentra en todo el mundo entre las latitudes comprendidas entre 45° norte y 35° sur, correspondientes a una temperatura de invierno de 10°C.^(2, 9) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). Generalmente no se encuentra por encima de los 1,000 metros, aunque ha sido observado a 2,200 metros en Colombia, donde la temperatura anual media es de 17°C y se ha registrado una epidemia de dengue a 1,700 metros en México (temperatura de 21 a 23°C).^(9, 16, 38, 39) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

El *A. aegypti* tiene su mayor actividad de picadura temprano en la mañana y tarde por la tarde.^(16, 28) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺) La hembra se alimenta frecuentemente con sangre más de una vez entre cada postura.^(16, 17, 28) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). La oviposición y los estadios larvarios se desarrollan de preferencia en depósitos de agua limpia quieta formados por objetos abandonados (latas, botellas, llantas, etc. que son productivas en las estaciones lluviosas), en floreros o en recipientes destinados al almacenamiento de agua para consumo humano (tanques, cisternas, etc. que son productivos durante todo el año).^(16, 28, 40) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). Los huevos pueden resistir períodos de sequía por más de un año. Esto posibilita su transporte a grandes distancias en recipientes que ya no contienen líquido.⁽¹⁶⁾ (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). El desarrollo larval y la pupación toman comúnmente entre 7 a 14 días.⁽¹⁶⁾ (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

La dispersión espontánea de las hembras es en promedio de 30 a 50 metros por día. (Nivel de evidencia IV). Sin embargo este rango de vuelo está relacionado con la disponibilidad de sitios de oviposición y puede ser más grande.⁽⁴¹⁾ (Nivel de evidencia III.3⁺⁺) La dispersión pasiva a grandes distancias por medios de transporte humano es muy común.^(16, 28) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺)

Fluctuaciones estacionales en las densidades de *A. aegypti* pueden variar, dependiendo de las costumbres de la población humana concernientes al almacenamiento de agua pero frecuentemente no se correlacionan con la incidencia del dengue.^(17, 25, 28) (Nivel de evidencia III.3⁺⁺). Esto explica la relevancia relativa de los índices de infestación para la vigilancia del dengue epidémico.⁽¹⁷⁾ Además, los niveles de corte que se manejan para distinguir entre situaciones

Dengue y Fiebre amarilla

de poco y alto riesgo fueron establecidos para la fiebre amarilla y no necesariamente son aplicables al caso del dengue.^(16, 17) (*Nivel de evidencia IV*)

En la actualidad (1998) la infestación de Colombia por *A. aegypti* es muy extensa, y el mosquito se detecta en lugares donde nunca se había registrado, como en el oriente del país⁽⁴²⁾ o en viviendas aisladas en áreas rurales, en veredas y en caseríos periurbanos.⁽⁴³⁾ (*Nivel de evidencia III.3***)

1.3.3 Inmunidad.

La inmunidad humana adquirida es serotipo-específica y de larga duración, hasta por toda la vida (*Nivel de evidencia III.3***) Después de una infección se desarrolla también una inmunidad transitoria contra los otros serotipos. (*Nivel de evidencia III.3***) Esta inmunidad heteróloga es completa durante las primeras 3 semanas a 2 meses y después se vuelve parcial por un período de hasta 7 meses adicionales. (*Nivel de evidencia III.3***) Experimentos en seres humanos mostraron que infecciones por otros serotipos durante este período, causaron una enfermedad subclínica difícil de reconocer.^(5, 44-46) (*Nivel de evidencia III.3***)

1.3.4 Importancia del dengue.

1.3.4.1 Dengue a nivel mundial.

La pandemia actual, que también involucra a las Américas, empezó en Asia por la dispersión amplia del *A. aegypti* y de los diferentes serotipos del dengue a este continente durante la segunda guerra mundial y por el cambio demográfico, ecológico y económico después de 1945 (*Nivel de evidencia IV*). La primera gran epidemia de FHD/SCD se registró en Manila en 1953/54 seguida por otra en 1956 y la tercera tuvo lugar en Bangkok en 1958.^(2, 47, 48) (*Nivel de evidencia III.3***)

Después se estableció un patrón de epidemias de FHD/SCD cada 3 a 5 años en los países del sudeste del Asia. Las epidemias sucesivas se volvieron cada vez más severas y largas por la mayor extensión geográfica dentro de los países.^(2, 11) Luego durante los años 1980 hubo una expansión dramática de la FHD/SCD epidémica (India, Sri Lanka, las islas Maldivas, China y el resurgimiento de la enfermedad en Singapur). En 1995, la FHD/SCD era ya una causa importante de hospitalización y mortalidad en niños en muchos países del Asia.^(2, 47, 48) (*Nivel de evidencia III.3***)

La pandemia llegó al Pacífico en los años 70⁽⁴⁹⁻⁵²⁾ y hubo epidemias de FHD/SCD en algunas islas.⁽⁵³⁾ En África y en el Medio Oriente también se han notificado epidemias de DC y algunos casos compatibles con FHD/SCD (Mozambique, Djibouti y Arabia Saudita).^(2, 47, 54, 55) (Nivel de evidencia III.3^{**})

Desde el abandono del programa de erradicación del *A. aegypti* varias epidemias han afectado a las américas^(9, 36, 37, 47) y los diferentes serotipos se hicieron gradualmente endémicos de nuevo.^(2, 9, 56, 57) En 1980-81 se introdujo probablemente una nueva cepa del serotipo dengue 2 de Vietnam que causó las primeras grandes epidemias de FHD/SCD en las américas.^(2, 58, 59) En 1994 apareció de nuevo el serotipo 3 en casos autóctonos (Nicaragua y Panamá) después de no haber sido aislado en éstos, desde 1977.^(9, 47, 56, 60) (Nivel de evidencia III.3^{**})

1.3.4.2 Dengue en Colombia.

1.3.4.2.1 Dengue clásico.

El número de casos de DC notificados por 100,000 habitantes por año, subió de 25.1 en 1982 a 59.8 en 1992 (fuente: SIS12).⁽⁶¹⁻⁶³⁾. A pesar de la reaparición del serotipo 3 en Centro América, todavía no se ha aislado en el país. Probablemente existe un subregistro importante del número de casos de DC, porque muchas infecciones son asintomáticas o tan leves que la gente no consulta^(61, 64, 65) y aparentemente existe también la tendencia a buscar ayuda médica únicamente cuando se manifiestan hemorragias u otras complicaciones.⁽⁶⁵⁻⁶⁸⁾ (Nivel de evidencia III.3^{**})

1.3.4.2.2 Dengue hemorrágico.

El primer caso de FHD confirmado en Colombia ocurrió a finales de 1989 en Puerto Berrío, Antioquia. Luego el número de casos subió de 40 en 1990 (letalidad: 0.1%) a 3.950 casos y 41 defunciones (letalidad: 1.04%) en 1997;^(63, 69, 70) pero es probable que exista una sobrenotificación puesto que se encontró que en 1995-96 apenas el 21% de los casos de FHD diagnosticados en el hospital de Villavicencio, llenaron realmente los criterios de la OMS.⁽⁶⁸⁾ (Nivel de evidencia III.3^{**}) También se encontró un bajo porcentaje de positividad serológica en los casos notificados, (5.1% en 1990 para todo el país y 8.6% para Santander en 1996 ^(66, 67)) aunque es igualmente posible que esto se deba a una mala conservación de las muestras, a muestras tomadas en momentos inoportunos, a problemas de procesamiento en los laboratorios o a una combinación de estos factores. (Nivel de evidencia IV)

1.3.4.2.3 Evolución anticipada del dengue.

Todas las condiciones están presentes para que el dengue siga aumentando en importancia en Colombia (*Nivel de evidencia IV*). Se calcula que alrededor del 80% de la población colombiana vive en zonas infestadas por *A. aegypti* y se encuentra en riesgo de contraer la infección. El virus se propaga más eficientemente gracias al alto grado de urbanización de la población. Los medios de transporte rápidos facilitan la introducción de nuevos vectores, nuevos serotipos y nuevas cepas del virus. La insuficiencia creciente en el servicio de suministro de agua por el aumento no controlado de la población en las ciudades, obliga a la gente a almacenar agua en sus casas. Se acumulan los desechos no biodegradables, como consecuencia de la sociedad de consumo y la falta de capacidad adaptada de los servicios de recolección, y se facilitan así, una multitud de criaderos para el vector. Este último además, ha aumentado su resistencia a los insecticidas de uso corriente y económicamente accesibles. Ya se ha detectado en Colombia resistencia del vector al insecticida Abate (Temephosâ), el cual se consideraba como el elemento clave en los programas de control químico del vector. ^(9, 35, 42, 56, 59, 71-75) (*Nivel de evidencia III.3⁺⁺*)

1.3.5 Factores de riesgo para la FHD/SCD

Estudios epidemiológicos y clínicos han permitido sugerir la existencia de factores de riesgo para el desarrollo de FHD/SCD, aunque muchos siguen siendo objeto de controversia: ^(9, 15, 76)

- se ha mostrado que las infecciones sucesivas por diferentes serotipos de dengue están relacionadas con la FHD/SCD en Tailandia, Birmania y Cuba, aunque en algunos brotes se han producido casos de enfermedad hemorrágica grave, a veces seguida por el choque y la muerte después de una infección primaria por dengue. ^(52, 58, 77-81) (*Nivel de evidencia III.2⁺⁺*)
- la FHD/SCD como consecuencia de una infección primaria no es excepcional en lactantes o menores de un año que han nacido de madres inmunes contra el dengue; ⁽⁸²⁾ (*Nivel de evidencia III.3⁺*).
- la FHD/SCD parece estar más asociada con infecciones por un virus de origen asiático; ^(83, 84) (*Nivel de evidencia III.3⁺⁺*).
- se ha sugerido la posibilidad de que la virulencia de un virus durante una epidemia podría aumentar cuando el agente pasa

por varias personas;⁽⁸¹⁾ (encontrado en un estudio único con un Nivel de evidencia III.3)

- se encuentra una mayor frecuencia de enfermedad grave en los niños que en los adultos, en las mujeres que en los varones y en los niños bien nutridos que en los malnutridos; ^(11, 80, 85-87) (encontrado en estudios únicos con un Nivel de evidencia III.3)
- y en Cuba se ha mostrado que el FHD/SCD es más común en los blancos que en los negros y también en las personas con ciertas enfermedades crónicas como diabetes, asma y anemia drepanocítica.^(80, 86) (encontrado en un estudio único con un Nivel de evidencia III.3)

1.4 PATOGÉNESIS.

1.4.1 Patogénesis de DC.

Una primera multiplicación del virus ocurre probablemente en el sitio de inoculación en las células del sistema reticuloendotelial o en fibroblastos. (Nivel de evidencia IV) En primates se detecta el virus después de 24 horas en los nódulos linfáticos regionales, seguido por la diseminación generalizada.^(3, 10, 12) (Nivel de evidencia III.3**)

Los aislamientos virales de muestras de suero indican que el virus circula libremente en el torrente sanguíneo. (Nivel de evidencia III.3**) También se ha podido aislar el virus de células mononucleares en sangre periférica, pero hasta la fecha no se ha identificado con exactitud cuál tipo de estas células, ni su frecuencia, probablemente baja de infección.^(10, 12) (Nivel de evidencia III.3**). No se conocen los órganos principales donde ocurre la multiplicación del virus. Estudios sugieren que se puede aislar el virus en el hígado con una frecuencia ligeramente mayor que en otros órganos.^(3, 10, 12) (Nivel de evidencia III.3**)

Se ha demostrado la presencia de antígeno o genoma viral en una pequeña proporción (1%) de las células de origen reticuloendotelial en el bazo, el timo, el hígado y los pulmones y en monocitos circulantes como también en los trombocitos, lo que podría sugerir una infección de los megacariocitos que producen las plaquetas y una destrucción de estas últimas por las inmunoglobulinas y el sistema de complemento. Una pequeña proporción de las células B muestran igualmente antígeno viral en su superficie.^(3, 10, 12) Experimentos *in vitro* han mostrado que monocitos humanos

Dengue y Fiebre amarilla

infectados con el virus de dengue producen citoquinas inflamatorias como interleukina 1b y el factor de necrosis tumoral 1a. ^(3, 10) (*Nivel de evidencia III. 3***)

1.4.2 Patogénesis de FHD/SCD

Los estudios patológicos se han limitado a autopsias de casos de FHD/SCD puesto que está contraindicado tomar biopsias durante la fase aguda de la enfermedad por el riesgo de hemorragias. En la mayoría de los casos no se encuentran lesiones severas como para explicar la defunción y esto se confirma por la rápida recuperación sin secuelas de los pacientes que sobreviven la fase del choque. ^(3, 10, 12) (*Nivel de evidencia III. 3***)

Se desconocen los factores desencadenantes de la FHD/SCD. Se enumerarán las hipótesis puesto que ninguna de ellas tiene implicaciones directas para el manejo clínico del paciente: ^(2, 11, 15, 58, 76-82, 88-99)

- variación en la capacidad patogénica de las diferentes cepas, topotipos y/o genotipos del virus (*Nivel de evidencia III. 3***);
- la teoría secuencial según la cual durante la infección con un serotipo se producen anticuerpos que pueden formar complejos con los viriones de algunas cepas de otros serotipos sin neutralizarlos. Estos complejos se adhieren enseguida a los receptores F_c de los monocitos y así se aumentaría el número de células infectadas. El SCD en primoinfecciones en niños menores de un año se debería a los anticuerpos IgG maternos, que son catabolizados gradualmente hasta niveles no neutralizantes. La infección generalizada de los monocitos desencadenaría una producción exagerada de sustancias vasoactivas (no identificadas) por los mismos, debido a su inmunoeeliminación al final del período febril (*Nivel de evidencia III. 3***);
- activación generalizada del complemento por los complejos anticuerpos IgG-virus que se forman en el caso de infección secundaria, con liberación de sustancias vasoactivas (C₃a, C₅a, histamina y/u otros desconocidos) e iniciación de la coagulación intravascular (*Nivel de evidencia III. 3***);
- preexistencia de otras patologías no relacionadas (*Nivel de evidencia III. 3*);
- susceptibilidad genética del individuo (teoría, no hay evidencia

hasta la fecha);

- o la combinación de algunos de estos factores, especialmente de los 2 primeros descritos (teoría basada en elementos con *Nivel de evidencia III.3***)

Hay que mencionar que una infección con un tercer serotipo, aunque teóricamente posible, no parece estar relacionada con FHD/SCD y que casos repetidos de SCD no han sido reportados.⁽⁸⁵⁾ (*Nivel de evidencia IV*)

La teoría secuencial es actualmente la más aceptada y aunque no completamente probada, es además probable que no sea la única operante. Esta teoría tiene consecuencias importantes para el desarrollo de vacunas contra la enfermedad puesto que se debería vacunar contra los 4 serotipos simultáneamente. De esa forma se evita el riesgo de FHD/SCD debido a una inmunidad contra solamente un serotipo inducido por vacunas monovalentes.^(15, 76) (*Nivel de evidencia IV*)

1.5 ESPECTRO CLÍNICO

El espectro de la enfermedad causada por la infección con el virus del dengue es muy amplio (Ver figura 1) presentando cuadros clínicos de duración y gravedad variables, lo cual depende tanto de factores asociados al huésped como al virus.⁽¹⁰⁰⁾ (*Nivel de evidencia IV*)

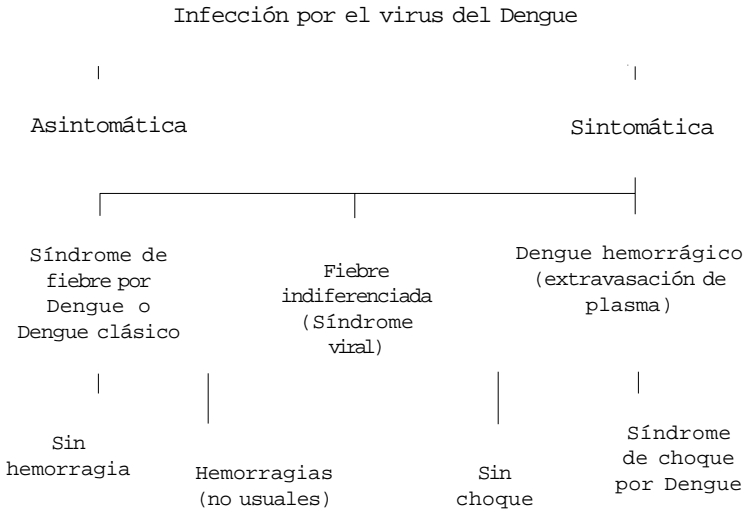
La infección puede ser totalmente **asintomática**, pasando en forma inadvertida para el paciente.^(13, 58) (*Nivel de evidencia III.2*) Los pacientes sintomáticos pueden presentar diferentes cuadros clínicos:

1.5.1 Fiebre indiferenciada.

Generalmente se presenta en lactantes y niños como un episodio de fiebre y exantema generalizado, imposible de diferenciar de infecciones producidas por otros virus (sarampión, influenza, rubéola e infecciones por enterovirus). En este caso la enfermedad es autolimitada y por lo general no es posible aclarar su etiología. En un estudio prospectivo se encontró que la presencia de anorexia, náusea, vómito y la prueba del torniquete positiva era más frecuente en el grupo de niños con infección por dengue que en aquellos con fiebre por otra causa.^(101,102) (*Nivel de Evidencia I*)

Figura 1.

Espectro Clínico de la Infección con el virus del dengue



1.5.2. Síndrome de fiebre por dengue o dengue clásico

El cual se presenta principalmente en niños mayores y adultos. El paciente tiene fiebre de inicio abrupto y puede o no tener manifestaciones hemorrágicas asociadas, por ejemplo en la piel.

El periodo de incubación del dengue, varía entre 3 y 14 días con un promedio de 5 a 7. Durante las 6 a 12 horas anteriores al inicio de la fiebre el paciente presenta cefalea, dolor lumbar, fatiga, anorexia y escalofrío. Algunas veces aparece eritema que compromete la cara, el cuello y la parte anterior del tórax. Este eritema puede desaparecer en los dos primeros días de la enfermedad, o tornarse macular, papular o escarlatiniforme con distribución centrífuga.⁽¹⁰⁰⁾

Posteriormente en forma abrupta el paciente desarrolla fiebre alta (40,5 °C). La cefalea se hace severa con localización retroocular, la

cual aumenta con los movimientos de los ojos; las conjuntivas pueden tornarse congestivas. Es característica la presencia de mialgias severas, dolor óseo y artralgias generalizadas que pueden llevar al paciente a incapacidad funcional motora. Durante los primeros días es frecuente que los enfermos manifiesten anorexia, náusea y vómito. Además síntomas respiratorios tales como rinitis, tos y odinofagia; disuria, parestesias en la piel, dolor en los testículos, delirio, alteraciones en el gusto, linfadenopatía de predominio cervical, son otros de los síntomas. En los casos típicos la fiebre persiste por 5 a 6 días y usualmente termina con una crisis, luego de la cual los síntomas empiezan a remitir.⁽¹⁰⁰⁾

Al inicio el pulso aumenta al aumentar la temperatura, pero posteriormente puede haber bradicardia la cual permanece hasta la convalecencia. La convalecencia algunas veces es prolongada con síntomas depresivos.

Los fenómenos hemorrágicos están presentes en 5 a 30% de los pacientes con dengue clásico. El grado de sangrado es variable (usualmente leve) y puede comprometer cualquier órgano. Las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes son petequias, púrpura, epistaxis, hemorragia gingival y menorragia. También se ha informado compromisos más severos con hematuria, sangrado gastrointestinal e intracraneano. Aunque no es frecuente puede ocurrir sangrado masivo que conduce a la muerte del paciente; éstos son llamados casos de **dengue con hemorragia insólita**.^(100, 103)

Hepatomegalia dolorosa ocurre en 10 a 30% de los casos de dengue clásico.⁽¹⁰⁴⁾ La severidad de la hepatomegalia no siempre se correlaciona con la gravedad de la enfermedad. El aumento de las aminotransferasas ocurre en 30 a 90% de los enfermos con dengue clásico. Pocos pacientes elevan el nivel de la fosfatasa alcalina y las bilirrubinas. La asociación de enfermedad hepática y encefalopatía ha sido descrita tanto en niños como en adultos.

Las complicaciones relacionadas con el sistema nervioso aunque excepcionales también pueden ocurrir en el dengue clásico. Se han descrito tres formas de compromiso:

- a) Cefalea, mareo, delirio, insomnio, inquietud e irritabilidad son los síntomas más frecuentes y se consideran parte del curso de la enfermedad.

Dengue y Fiebre amarilla

- b) Manifestaciones más severas tales como depresión del sensorio, letargia, confusión, convulsiones, meningismo, paresias y coma, muchas veces difíciles de diferenciar de encefalitis. Los pacientes con encefalopatía por dengue muy ocasionalmente muestran pleocitosis en el LCR. Lo más frecuente es que la glucosa, las proteínas y las células permanezcan dentro de los límites normales. ^(89, 105-107) (Nivel de evidencia III.3)
- c) Síntomas de aparición tardía (muy poco frecuentes) que incluyen parálisis de las extremidades superiores e inferiores, epilepsia, temblor, amnesia, pérdida de la sensibilidad, mono o polineuropatía, sicosis maníaca, depresión, demencia y Guillan Barré.

La mayoría de los pacientes se recuperan del compromiso neurológico sin secuelas.

1.5.3 Dengue hemorrágico.

La principal alteración fisiopatológica que determina la gravedad de la enfermedad y que la diferencia del dengue clásico, es la **extravasación de plasma**, manifestada por hipotensión, estrechamiento de la presión de pulso (≤ 20 mmHg), falla circulatoria y choque. Asociado a la extravasación del plasma puede ocurrir Coagulación Intravascular Diseminada (CID).

En el período inicial de la enfermedad no es posible diferenciarla del dengue clásico. Después de 2 a 5 días el paciente empeora, manifestando postración, inquietud, eritema facial, dolor abdominal, deshidratación, signos de colapso y falla circulatoria (diaforesis, enfriamiento de las extremidades, disnea, cianosis peribucal etc.) y/o manifestaciones hemorrágicas múltiples. Los pacientes pueden pasar a una fase de choque profundo haciéndose imperceptibles el pulso y la presión arterial. De acuerdo a estos signos la enfermedad puede clasificarse como dengue hemorrágico con o sin choque. En América las formas severas de la enfermedad generalmente se presentan en niños mayores y adultos que sufren una segunda infección. ^(77, 108) (Nivel de evidencia III.3), ⁽¹⁰⁹⁾ (Nivel de evidencia IV), ⁽¹¹⁰⁾ (Nivel de evidencia III.3)

Los signos vitales se alteran observándose pulso débil, hipotensión arterial y aumento de la frecuencia respiratoria. Es frecuente la hepatomegalia dolorosa; en forma ocasional se presenta ictericia. Solo el 5% de los pacientes desarrollan esplenomegalia. Son frecuentes las hemorragias espontáneas en la piel principalmente sobre los sitios de punción. En los casos más severos el compromiso

respiratorio está dado por edema pulmonar e hipoxemia, los cuales conducen al paciente a acidosis metabólica. Se han descrito casos de insuficiencia respiratoria aguda del adulto. Los Rayos X de tórax y el ultrasonido demuestran la presencia de derrame pleural y ascítis. Aunque la mayoría de los pacientes responden al tratamiento, el pronóstico de aquellos con choque y sangrado masivo es reservado. La encefalopatía es la manifestación neurológica más frecuente, posiblemente agravada por la presencia de edema cerebral. Cuando se presenta insuficiencia renal aguda se relaciona con el grado y duración de la hipoperfusión renal.⁽¹¹¹⁾ (Nivel de evidencia III.2),^(56, 112-116) (Nivel de evidencia III.3)

En un estudio retrospectivo realizado en niños tailandeses, la prueba del torniquete positiva, la hepatomegalia dolorosa, el eritema facial y la congestión conjuntival al momento de la admisión fueron marcadores predictivos de dengue hemorrágico y síndrome de choque por dengue.⁽¹⁰³⁾ (Nivel de evidencia IV). El examen por medio de ultrasonido de la cavidad abdominal y torácica, puede ser útil para predecir de manera temprana las formas severas del dengue hemorrágico.⁽¹¹⁷⁾ (Nivel de evidencia III.3). La convalecencia es breve y los pacientes que logran sobrevivir al choque se recuperan totalmente y sin secuelas.

1.5.3.1 Clasificación de la gravedad del dengue hemorrágico.

La gravedad del dengue hemorrágico se clasifica en cuatro grados:

Grado I: Fiebre acompañada de síntomas generales inespecíficos. Trombocitopenia y hemoconcentración. La única manifestación hemorrágica es provocada, es decir, la prueba del torniquete, es positiva.

Grado II: Todas las manifestaciones del grado I, más hemorragias espontáneas.

Grado III: Trombocitopenia, hemoconcentración y hemorragia espontánea. Insuficiencia circulatoria manifestada por pulso débil y rápido, presión diferencial disminuída (20 mmHg o menos) o hipotensión con piel fría y húmeda y agitación.

Grado IV: Trombocitopenia, hemoconcentración y hemorragias espontáneas. Con choque profundo con presión arterial y pulso imperceptibles.

Los grados III y IV constituyen el **síndrome de choque por dengue**.^(9, 104) (Nivel de evidencia IV).

1.5.4 Definiciones de los criterios para el diagnóstico clínico del dengue hemorrágico/síndrome de choque por dengue.

(Ver Cuadro 1 de Definiciones de Caso)

Con el fin de evitar el diagnóstico injustificado y basados en las manifestaciones clínicas, la Organización Panamericana de la Salud ha propuesto criterios clínicos y de laboratorio para el diagnóstico de dengue hemorrágico y síndrome de choque por dengue.⁽⁹⁾ (Nivel de evidencia IV)

1.5.4.1 Datos Clínicos.

- Fiebre alta de comienzo agudo, con duración continua de 2 a 7 días.
- Manifestaciones hemorrágicas, tan leves como una prueba del torniquete positiva. Puede haber cualquiera de los siguientes síntomas: petequias, púrpura, equimosis, epistaxis, hemorragia gingival, hematemesis y/o melenas.
La prueba del torniquete se realiza inflando el mango de un tensiómetro de presión sanguínea, hasta un punto medio entre las presiones sistólica y diastólica durante 5 minutos. Se considera positiva cuando aparecen en el antebrazo 20 o más petequias por pulgada cuadrada (6.25 cm²) en los 15 minutos siguientes a la liberación del tensiómetro. La prueba puede ser negativa o ligeramente positiva durante la fase de choque profundo. Suele tornarse positiva, a veces muy positiva, si se realiza después de la recuperación del choque.
- Hepatomegalia: Puede no haber un aumento en el tamaño del hígado en algunas etapas de la enfermedad. Su frecuencia es variable, dependiendo de la población estudiada.
- Choque manifestado por pulso rápido y débil, estrechamiento de la presión del pulso (≤ 20 mmHg), o hipotensión en relación con la edad (< 5 años: ≤ 80 mm Hg sistólica; ≥ 5 años: < 90 mm Hg sistólica); con piel fría y húmeda y agitación.⁽⁹⁾

1.5.4.2 Datos de Laboratorio

- Trombocitopenia ≤ 100.000 plaquetas por mm³
- Hemoconcentración, aumento del hematocrito en $\geq 20\%$ del valor de recuperación o normal.

Los dos primeros criterios clínicos más la trombocitopenia y hemoconcentración o un índice de hematocrito creciente bastan para establecer un diagnóstico clínico de dengue hemorrágico. La presencia de anemia o hemorragia grave, derrame pleural (confirmado por Rayos X de tórax) y/o hipoalbuminemia son indicios que

confirman la extravasación de plasma.⁽¹⁰⁴⁾

El choque con un índice de hematocrito elevado (excepto en pacientes con hemorragia grave) y marcada trombocitopenia apoyan el diagnóstico de dengue hemorrágico con síndrome de choque por dengue.⁽⁹⁾

1.6 TRATAMIENTO.

Debido a la falta de estudios controlados suficientes, las recomendaciones para el tratamiento están basadas en las guías establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la opinión de algunos expertos.^(9, 20, 104, 118, 119) (*Recomendación grado C*)

El tratamiento de la **fiebre por dengue o dengue clásico** es sintomático y generalmente es ambulatorio. Es indispensable dar información clara a la familia sobre la evolución de la enfermedad, los síntomas y signos de alarma como sangrado, síntomas gastrointestinales (vómito que puede llevar a deshidratación) y trastornos del estado de conciencia. El control de la fiebre y la ingestión de líquidos abundantes para prevenir convulsiones y deshidratación son los objetivos fundamentales. El uso de ácido acetil salicílico (aspirina) está proscrito ya que puede causar irritación gástrica y hemorragias por su acción antiagregante plaquetaria y acidosis.

En el caso del **dengue hemorrágico** en sus diferentes presentaciones, lo más importante es la intervención temprana para evitar las complicaciones más severas (choque y trastornos de la coagulación), que podrían comprometer la vida del paciente. El control frecuente de plaquetas y del hematocrito es de gran ayuda. La terapia debe estar dirigida a reemplazar el plasma y mantener el volumen circulatorio.

1.6.1 Manejo del dengue hemorrágico

(*Recomendación grado I y II*)

El uso de antipiréticos ayuda a controlar la fiebre, mas no a disminuir la duración de la misma. El antipirético ideal es acetaminofén (paracetamol) aunque en dosis mayores a las permitidas puede causar falla hepática.

Las dosis recomendadas son:

Menores de 1 año 60 mg cada 6 horas

1 a 3 años

60 a 120 mg cada 6 horas

Dengue y Fiebre amarilla

3 a 6 años	150 mg cada 6 horas
6 a 12 años	150 a 300 mg cada 6 horas
Adultos:	0.5 a 1 gm cada 6 horas

Las sales de rehidratación oral están indicadas para prevenir la deshidratación, mientras el paciente las tolere. La observación estrecha del paciente y la determinación diaria de hematocritos son indispensables. El estado de hidratación del paciente y el aumento progresivo del hematocrito reflejan un aumento de la permeabilidad vascular con extravasación de plasma y hacen necesario la administración de líquidos intravenosos.

El volumen requerido se obtiene sumando las necesidades vitales (100 ml por kg de peso) más las pérdidas calculadas de acuerdo con el grado de deshidratación. (*Recomendación grado I, II y III, 5%, 10% y 15% de las necesidades vitales respectivamente*)

Las soluciones recomendadas son Dextrosa al 5% en Lactato de Ringer o Dextrosa al 5% en Solución Salina Normal (si el sodio es normal). Entre nosotros es posible usar la solución de Pizarro la cual contiene por cada litro 90 miliequivalentes de Sodio, 80 miliequivalentes de Cloro, 20 miliequivalentes de Potasio, 30 miliequivalentes de acetato y 20 gramos de dextrosa.

La cantidad de líquidos prescritos por orden no debe exceder de 500cc. sin que se reevalúe la condición del paciente. El tiempo máximo para la administración no debe sobrepasar 6 horas. Las órdenes deben ser escritas en forma clara y precisa (volumen exacto de líquidos, tiempo y velocidad de la administración gotas/minuto).

Es necesario el control estricto de signos vitales, volumen urinario (cada hora) y hematocrito (cada 4 horas), lo mismo que signos de insuficiencia cardíaca para prevenir la sobrecarga de líquidos. (Ver flujograma)

1.6.2 Manejo del síndrome de choque por dengue.

(*Recomendación grados III y IV*) (Ver flujograma)

El choque es una emergencia médica que exige la administración inmediata de líquidos intravenosos. Todo paciente debe tener clasificación sanguínea y pruebas cruzadas por si se hace necesario transfundirlo. El tiempo de protrombina (TP) y el Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT) deben estudiarse en todos los casos de choque para determinar el inicio y la severidad de CID, la cual define el pronóstico. También debe administrarse oxígeno a todos los pacientes en choque.

En el síndrome de choque por dengue la reposición inmediata del plasma se debe hacer con Lactato de Ringer o Solución Salina Normal a razón de 20 ml/kg/hora. En caso de que después de la administración del primer bolo, el choque no revierta, se debe administrar plasma o soluciones coloidales tales como dextrán 40 disuelto en Solución Salina Normal (10-20 ml/kg de peso), con lo cual la mayoría de los pacientes responden. La administración de líquidos debe continuar a razón de 10 a 20 ml/kg/hora, hasta que se restablezca el volumen urinario y los signos vitales se normalicen.

En los casos en los cuales el choque persiste, debe sospecharse hemorragias internas asociadas, que requieren la administración de sangre completa fresca (10 ml/kg). La administración de líquidos debe continuar por 24 a 48 horas, después que los signos vitales se estabilicen y el hematocrito descienda. El ritmo de reemplazo debe ser más lento y reducido (5 a 10 ml/kg/hora) y ajustarse de acuerdo a la evolución del paciente. La determinación de la presión venosa central (PVC) puede ser necesaria en los casos severos. Posteriormente viene la reabsorción del plasma extravasado, que se manifiesta por un nuevo descenso del hematocrito. La hipervolemia es frecuente y puede aparecer edema pulmonar e insuficiencia cardiaca si continua la administración de líquidos intravenosos.

La hiponatremia debe corregirse lo mismo que la acidosis metabólica, para evitar el desarrollo de CID. Si se presenta CID está indicada la administración de plasma congelado fresco, crioprecipitado y/o plaquetas. No se ha demostrado el beneficio de la heparina en los casos de CID. También puede presentarse hipocalcemia e hipoglicemia.

El uso de corticoesteroides en el tratamiento del choque, no ha demostrado beneficios; no disminuye la mortalidad.⁽¹²⁰⁾ (*Recomendación grado E*). La terapia con el sulfonato sódico de carbazochrome para prevenir el aumento de la permeabilidad vascular, tampoco ha sido efectiva.⁽¹²¹⁾ (*Recomendación grado E*)

Los pacientes deben permanecer en el hospital hasta que se cumplan los siguientes criterios:

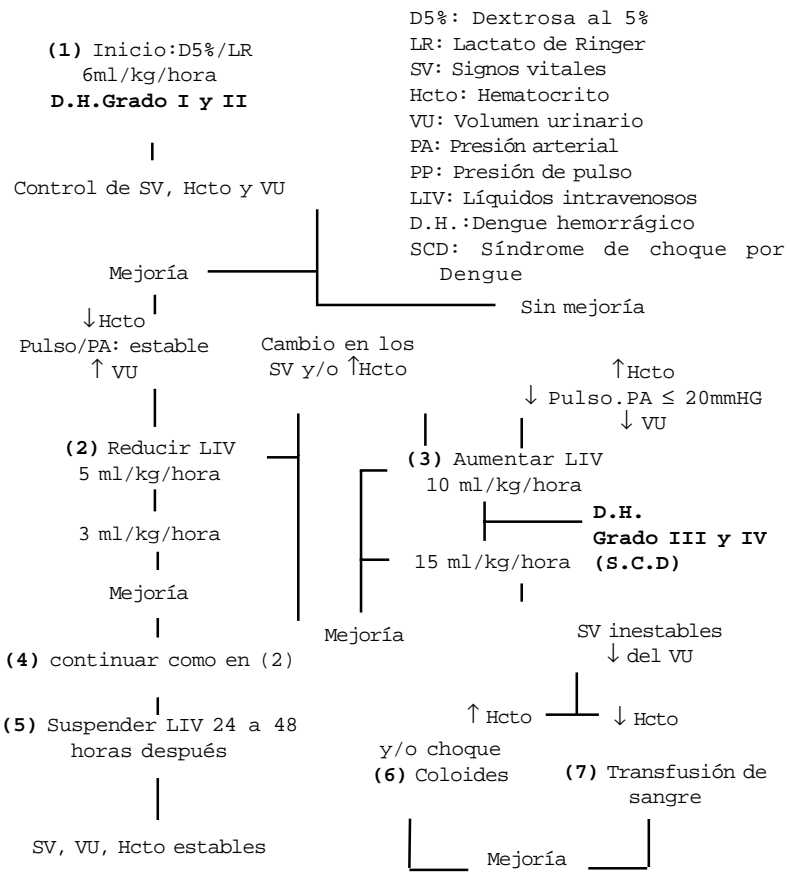
- 1) Ausencia de fiebre durante 24 horas (sin el uso de antipiréticos o medios físicos)
- 2) Mejoría visible del cuadro clínico.
- 3) Hematocrito estable.
- 4) Que hayan pasado al menos tres días después de la recupera-

Dengue y Fiebre amarilla

ción del choque.

- 5) Recuento plaquetario superior a 50.000/mm³
- 6) Ausencia de sufrimiento respiratorio secundario a derrame pleural o ascítis.
- (⁹) (Recomendación grado C)

Flujograma para el reemplazo de líquidos en Dengue hemorrágico/choque por Dengue



1.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial en la fase aguda incluye un espectro amplio de enfermedades virales asociadas a exantema, entre ellas sarampión, rubéola, mononucleosis, enterovirus etc. De acuerdo con las características epidemiológicas del lugar se debe considerar infección por otros virus como influenza, hepatitis A, fiebre amarilla y otras fiebres hemorrágicas. También debe incluirse infecciones bacterianas como fiebre tifoidea, bacteremias por meningococo y otros Gram negativos, leptospirosis, infecciones parasitarias como malaria e infecciones por Rickettsia⁽¹¹⁸⁾ (*Evidencia grado IV*), ⁽¹²²⁾ (*grado de evidencia III.3*)

Para un diagnóstico adecuado es importante la secuencia con que aparecen los síntomas y los signos. Teniendo en cuenta los criterios antes mencionados, el diagnóstico puede hacerse tempranamente antes que el paciente alcance el estado crítico de choque.

1.8 DIAGNÓSTICO

1.8.1 Parámetros de laboratorio clínico

Para el diagnóstico temprano se pueden tener en cuenta los siguientes:

- **Sangre periférica:** En sangre periférica los hallazgos asociados con dengue clásico son: un número de glóbulos blancos normal o leucopenia ligera, con predominio inicial de las formas jóvenes de neutrófilos. Al final de la fase febril hay leucopenia, neutropenia, linfocitosis. Se puede observar linfocitosis con cerca del 15 al 20% de linfocitos atípicos uno o dos días antes de la desaparición de la fiebre.^(119, 123) En el dengue hemorrágico también es común la leucopenia.⁽¹²³⁾
- **Plaquetas:** Un hallazgo constante es una trombocitopenia moderada o severa en el dengue hemorrágico pero no en dengue clásico. El conteo de plaquetas cae rápidamente a niveles bajos \leq a 100.000 por mm^3 , usualmente se encuentra entre los días 3 y 8 de la enfermedad. Menos de 1 ó 2 plaquetas por campo de amplio poder (lente de inmersión) es indicativo de menos de 100,000 plaquetas por mm^3 ^(9, 89, 116, 119, 123) (*Nivel de evidencia III.2 Recomendación grado B*)

Un estudio que evaluó los criterios de diagnóstico clínicos y de laboratorio en la etapa temprana de la enfermedad, mostró que el

Dengue y Fiebre amarilla

número de plaquetas, de leucocitos totales, de neutrófilos absolutos y de monocitos absolutos en la etapa temprana, fueron más bajos en personas con dengue que con fiebre de origen desconocido⁽¹⁰¹⁾ (*Nivel de evidencia I Recomendación grado A*). Otro estudio confirma estas observaciones al encontrar leucopenia en el 62.5% de casos confirmados de dengue y la trombocitopenia en el 27% de los casos confirmados; estos parámetros son buenos predictores de diagnóstico de dengue.⁽¹²⁴⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*)

- **Hematocrito:** Poco después o simultáneamente con la trombocitopenia ocurre un aumento en el hematocrito por extravasación plasmática. Se deben hacer determinaciones más frecuentes del hematocrito una vez éste aumenta porque su nivel se correlaciona bien con la pérdida del volumen plasmático y con la severidad de la enfermedad. Sin embargo, pueden dar resultados equívocos cuando hay hemorragias francas o cuando se hace un reemplazo de líquidos en forma excesiva y temprana.^(101, 119) (*Nivel de evidencia I Recomendación grado A*)

El mismo estudio anterior mostró que no había una diferencia significativa en el hematocrito en niños con infección por virus del dengue y con enfermedad febril de origen desconocido.⁽¹⁰¹⁾ (*Nivel de evidencia I Recomendación grado A*)

- **Proteínas totales / albúmina plasmática:** Las hipoproteinemias e hipoalbuminemias, evidencias de extravasación plasmática, son comunes. Una relación invertida entre albúmina y globulinas, se encuentra en la tercera parte de los pacientes.⁽¹¹⁹⁾
- **Pruebas de función hepática:** La mayoría de los pacientes con dengue hemorrágico tienen elevación de las aspartato aminotransferasa (AST), su nivel es cerca de 3 veces el nivel de la alaninoaminotransferasa (ALT).⁽¹¹⁹⁾

El estudio anterior también evaluó los niveles plasmáticos de aspartato aminotransferasa (AST) y de alanino aminotransferasa (ALT) y mostró que fueron más altos en niños con dengue que en aquellos con fiebre de origen desconocido. La única diferencia significativa en los hallazgos iniciales entre pacientes con dengue clásico y dengue hemorrágico, fue que estos últimos tenían un

conteo más bajo de plaquetas y niveles más altos de AST en la etapa temprana; es decir, niveles plasmáticos normales de AST son un predictor fuertemente negativo para excluir dengue hemorrágico; esta observación debe ser aplicada con cuidado en aquellas regiones donde hay enfermedades endémicas como hepatitis viral, fiebre tifoidea y leptospirosis que pueden causar daño hepático y niveles elevados de AST.⁽¹⁰¹⁾ (Nivel de evidencia I Recomendación grado A)

1.8.2 Diagnóstico de infección por el virus del dengue

El diagnóstico definitivo de infección por virus del dengue solo puede ser hecho en el laboratorio y depende del aislamiento del virus, la detección del antígeno viral o de su ácido nucleico en suero, tejidos ó la detección de anticuerpos específicos en el suero del paciente.

Puede ser complicado por varios factores:

- Circulación simultánea de dengue y de otros flavivirus (hay 70). La mayoría de las pruebas serológicas miden anticuerpos que tienen reacción cruzada y pruebas más específicas tienen problemas de costos y son más laboriosas. Además dos o más tipos de virus pueden infectar en forma secuencial un huésped principalmente en áreas endémicas. Cuando esto ocurre la respuesta de anticuerpos a la infección secuencial (Infección secundaria) es diferente de la estimulada en una infección primaria. Una respuesta secundaria de anticuerpos ocurre cuando el huésped ha sido inmunizado contra un *Flavivirus*, lo que hace difícil el diagnóstico serológico específico.⁽⁴⁴⁾
- Algunos de los reactivos para el diagnóstico de dengue no están disponibles comercialmente.
- El tiempo requerido para obtener los resultados de laboratorio es largo. El aislamiento e identificación de los virus de muestras de la fase aguda y el desarrollo de niveles de anticuerpos detectables pueden requerir una semana a partir de la toma de la muestra o del comienzo de los síntomas respectivamente.

Por lo anterior los objetivos del diagnóstico por laboratorio de una infección por dengue son: La confirmación de los casos de dengue para diferenciarlos de otras enfermedades con presentación clínica similar, como aquellas producidas por otros arbovirus, virus respiratorios, sarampión y leptospirosis y servir como soporte en la vigilancia de la transmisión del virus del dengue y en la prevención de epidemias.⁽¹²⁵⁾

Dengue y Fiebre amarilla

1.8.2.1 Muestras.

La efectividad del laboratorio depende de la calidad de las muestras recibidas. Junto con el conocimiento básico de la viremia y de la respuesta de anticuerpos en infecciones por dengue, se requiere un manejo óptimo de las muestras por parte de los médicos, de los epidemiólogos y del personal de laboratorio.

Aunque el virus se replica en macrófagos y en células del sistema mononuclear, el suero es la muestra ideal para los estudios virológicos y serológicos. El laboratorio debe recibir 1 ml de suero o más si es posible, se debe evitar la hemólisis porque interfiere con algunas pruebas serológicas y se deben evitar ciclos de congelación y descongelación, porque interfieren con el aislamiento viral. En caso de muerte, el virus del dengue se puede aislar de muestras de hígado, pulmón, bazo, nódulos linfáticos y corazón. ⁽¹²⁵⁾

Este virus, como todos los virus envueltos, es termolábil, por lo que se debe tener cuidado en el almacenamiento y transporte de la muestra. Si ésta va a ser entregada al laboratorio en los siguientes 5 días debe ser almacenada a 4°C o en hielo para mantener la viabilidad viral; no se debe congelar ni poner a temperaturas de -20°C. Si la entrega se va a demorar más, es necesario almacenarla congelada a -60°C o en hielo seco (**No se deben almacenar en los congeladores de las neveras normales**). Las muestras de tejido deben ser congeladas a -60°C inmediatamente, en estas condiciones el virus permanece viable por mucho tiempo. Las muestras de fase convaleciente para pruebas serológicas se pueden guardar a 4°C y a -20°C si se van a guardar por varios años.

Es importante que cada muestra enviada al laboratorio para diagnóstico llegue con: información demográfica, resumen de la historia clínica, historia de viajes, fecha de toma de la muestra, fecha de inicio de la sintomatología actual, dirección y teléfono. **Las muestras que llegan sin la información de la fecha de toma de la muestra y fecha de inicio de la sintomatología tienen problemas en la selección de las pruebas diagnósticas y en la interpretación de los resultados.** ⁽¹²⁵⁾

1.8.2.2 Diagnóstico serológico

Hay cinco pruebas que han sido rutinariamente usadas para el diagnóstico serológico de infección por dengue: inhibición de la hemaglutinación, fijación del complemento, neutralización, ELISA IgM de captura (MAC-ELISA) y ELISA IgG indirecto.

- **EL MAC-ELISA**, es el método más aceptado y usado para hacer el diagnóstico oportuno del dengue, en muestra obtenida después del quinto día del comienzo de los síntomas. ⁽¹²⁶⁾ Es una prueba que no discrimina al serotipo. ⁽⁵⁴⁾ (*Nivel de evidencia III.1 Recomendación grado B*) Los anticuerpos IgM son producidos por los pacientes con infecciones primarias, secundarias y probablemente terciarias por dengue, aunque la respuesta en estos dos últimos probablemente es baja y transitoria. ^(123, 127) (*Nivel de evidencia III.1*)

El MAC ELISA en una sola muestra es menos sensible para diagnosticar infección por dengue y los resultados positivos en ella son provisionales y no significan necesariamente que la infección por dengue sea la actual, sino que la persona ha tenido dengue en algún momento durante los 2 a 3 meses previos. ⁽¹²³⁾ Sin embargo es la prueba usada para la detección de anticuerpos para dengue en los laboratorios de salud pública de Colombia, donde la presencia de IgM específica en una sola muestra es considerada como suficiente y no se hacen pruebas de seguimiento para confirmar los resultados presuntivos. La detección de IgM con MAC-ELISA tiene una sensibilidad de 10 a 78% (CL-95: 75-81%) en muestras no seriadas y de más de 97% (LC-95: 96-98%) en muestras seriadas comparado con la combinación de IHA, detección de IgM y aislamiento viral. La especificidad sería del 98% y es mejor que la de la IHA. ^(7, 9, 114, 125, 128)

- **La ELISA de captura para la detección de anticuerpos IgG dengue - específicos (GAC-ELISA)** ofrece muchas ventajas (excelente sensibilidad, facilidad de ejecución, automatización, necesita solamente muestras de algunos microlitros), da una sensibilidad 20% superior a la de la IHA. ⁽¹²⁵⁾ Títulos \geq a 100 son consideradas como positivos ⁽¹²⁴⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*). No está disponible en Colombia.
- **La Inhibición de la hemaglutinación (IHA)** es la prueba estándar de la OMS para confirmar y clasificar las infecciones por dengue. Se usa actualmente para cuantificar los anticuerpos totales en muestras pareadas y para encuestas seroepidemiológicas. ^(123, 126) Una alza cuádruple de los títulos es considerada como diagnóstica, lo que implica que se necesitan normalmente muestras seriadas (de la fase aguda y de la fase convaleciente). Sin embargo, se han podido establecer estándares para diferenciar entre infecciones primarias y secundarias en una sola muestra gracias a la gran experiencia que existe con esta

prueba: pacientes convalecientes con primoinfecciones habitualmente tienen títulos $\leq 1:640$ y los pacientes con una infección secundaria $\geq 1:2,560$.⁽¹²⁵⁾ La IHA detecta tanto los anticuerpos IgG como los IgM. La sensibilidad de la IHA es 53% (LC-95: 50-56%) en muestras de admisión no seriadas y 99% (CL-95: 98-99%) en muestras seriadas. Los anticuerpos IHA después de una infección con dengue no desaparecen, pero individuos con éstos pueden ser susceptibles a infecciones con otros serotipos.^(3, 128) Su principal desventaja es que no permite identificar el serotipo infectante.⁽¹²³⁾ Pocos laboratorios la están haciendo en la actualidad.

- **La neutralización (NT)**, es un método reconocido a nivel internacional, se toma como referencia para los otros procedimientos serológicos e identifica anticuerpos específicos de serotipo. Es la prueba más específica y sensible para la detección del virus del dengue.^(123, 126) Hay una variante que se realiza en microplatos, es más económica porque requiere menos cantidad de suero, de materiales y de reactivos pero es enormemente laboriosa; es útil para estudios epidemiológicos a gran escala y para la investigación de la eficacia de la vacuna.⁽¹²⁹⁾ (Nivel de evidencia I, Recomendación grado A). Se considera un alza cuádruple de los títulos en muestras seriadas, como diagnóstico para una infección reciente.^(3, 78, 125, 128, 130)
- La otra prueba es la **fijación de complemento**, no usada para diagnóstico serológico de rutina porque requiere personal altamente entrenado.

En la actualidad se están haciendo ensayos con pruebas de ELISA para la detección de IgM e IgG que utilizan antígenos recombinantes con una alta especificidad al compararla con las pruebas estándar y al parecer pueden ser útiles para el diagnóstico serológico en áreas donde ocurren otras infecciones por Flavivirus⁽¹³¹⁾ (Nivel de evidencia III.1). La IgM y la IgG pueden también ser detectadas en forma combinada por una prueba rápida de inmunocromatografía, la cual da resultados en 7 minutos, con una sensibilidad del 99% y una especificidad del 96%. No necesita equipos sofisticados y puede ser hecha en el mismo sitio donde se atiende el paciente. Además diferencia entre infección primaria e infección secundaria porque en los primeros se encuentra elevada la IgM y bajos niveles de IgG.^(131, 132) (Nivel de evidencia III.1) No está disponible en nuestro medio.

1.8.2.3 Diagnóstico virológico.

El agente se puede identificar mediante el aislamiento del virus o mediante la detección de los componentes virales, sean proteínas y/o ácidos nucleicos. Estos métodos son la forma más precisa de confirmación diagnóstica.⁽¹²⁶⁾

- Aislamiento viral.

El aislamiento del virus de muestras clínicas se realiza por su cultivo en células de mosquito AP61 y C6/36; la identificación del virus aislado se hace por anticuerpos monoclonales serotipo específico a través de pruebas de inmunofluorescencia indirecta.^(54, 56) (*Nivel de evidencia III.1*). La dilución del suero a 1:40 en vez de 1:10 en el momento de su inoculación en los cultivos celulares es mejor, debido a la disminución de la toxicidad de la muestra. Otro método de aislamiento es la inoculación de la muestra del plasma de pacientes en mosquitos *Toxorhynchites splendens* o *amboinensis*; después de 14 días se examina la cabeza de los mosquitos para detectar la presencia por inmunofluorescencia del virus del dengue. Esta última es una prueba muy sensible que se utiliza en laboratorios epidemiológicos y de investigación⁽¹³³⁾ (*Nivel de evidencia I*)

El éxito en el aislamiento del virus de suero humano depende de varios factores, como la manera en que la muestra ha sido manejada y almacenada porque el virus puede ser inhibido por el calor, el pH y varios químicos y por el nivel de viremia que depende del tiempo de comienzo de los síntomas, mayor en los primeros 5 días y del título de anticuerpos.

- Detección de ácidos nucleicos.

La identificación del dengue por la detección de ácidos nucleicos es una forma sensible y específica para detectar virus presentes en especímenes clínicos.⁽¹³⁴⁾ (*Nivel de evidencia III.1*). Una variante de la reacción en cadena de la polimerasa, es la RT-PCR, una de las técnicas más modernas con un amplio espectro de aplicación; puede convertirse en la más empleada en el diagnóstico de las infecciones por dengue en sus formas graves. La ampliación, en miles de veces de una secuencia blanco del genoma viral se realiza en pocas horas y es especialmente útil para la confirmación rápida de los casos con el diagnóstico de los serotipos de dengue.⁽¹³⁴⁻¹³⁶⁾ (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*). Las muestras para RT-PCR deben ser obtenidas idealmente en la fase temprana de la enfermedad, cuando los anticuerpos anti-dengue están bajos o son indetectables, porque la viremia disminuye cuando aparecen los anticuerpos^(134, 136) (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*)

- Tiempo de toma de las muestras y tipo de prueba:

Como ocurre en muchas de las infecciones virales, el virus alcanza su máximo título en sangre antes de que el paciente esté lo suficientemente enfermo para acudir al médico, por lo que el diagnóstico de laboratorio se enfrenta a títulos en descenso del virus en sangre en los primeros 5 días del comienzo de los síntomas^(26, 125), tiempo en el que es factible el aislamiento viral. Después de este tiempo los virus son neutralizados al aparecer los anticuerpos específicos. Por esta razón el aislamiento viral no es práctico en muestras de pacientes tomadas al día 6 o más del comienzo de los síntomas. Por lo anterior es imperativo que se tome una muestra de fase aguda de la enfermedad tan pronto como sea posible después del comienzo de los síntomas.⁽¹²⁵⁾ En un estudio clínico con óptimos recursos diagnósticos, se encontró que el dengue puede ser confirmado virológica y serológicamente en el 40% de los casos documentados y antes del día 5 de la enfermedad el diagnóstico puede ser confirmado por el aislamiento viral en el 90%⁽¹³³⁾ (*Nivel de evidencia I Recomendación grado A*)

El aislamiento viral es importante en el diagnóstico de dengue por varias razones: primero porque la mayoría de las pruebas serológicas no son específicas de serotipo y el aislamiento viral confirma que el dengue es el virus infectante. Segundo porque identifica el serotipo infectante a través de anticuerpos monoclonales específicos. Finalmente porque una variedad de análisis genéticos están disponibles para estudios epidemiológicos con el RNA de virus aislados.⁽¹²⁵⁾

Los anticuerpos IgM tienden a aumentar a niveles detectables en sangre durante la fase aguda de la enfermedad. Un porcentaje pequeño tienen niveles detectables de IgM en el día que comienzan los síntomas pero no hay positividad en la mayoría hasta el sexto día y persisten por 60 a 90 días;^(125, 137) aunque en un estudio se comprobó que la IgM puede persistir a niveles bajos en algunas personas por más de 90 días después de la infección⁽¹²⁴⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*)

El dengue puede ser confirmado serológicamente después del día 5 por la detección de la IgM en el 77% de los casos.⁽¹³³⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*). Como la IgM persiste en algunas personas por 3 o más meses y como la mayoría de las pruebas serológicas no son tipoespecíficas, el diagnóstico basado en una sola determinación de IgM no es definitivo por la posibilidad de reacciones cruzadas que dependen del antígeno y del tipo de

prueba serológica usada.⁽¹²⁵⁾ La respuesta puede ser serotipo específica en algunas pruebas de IgM en infecciones primarias pero menos frecuentemente en infecciones secundarias.^(54, 125) (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*). Lo que tiene como consecuencia que en la actualidad no hay pruebas serológicas que permitan diagnosticar el serotipo infectante de manera fiable en infecciones secundarias.^(3, 125)

En infecciones primarias, los anticuerpos IgG comienzan a aparecer pocos días después de los anticuerpos IgM. Los títulos aumentan lentamente y permanecen detectables por muchos años o por toda la vida. Debido a esto, la presencia en una sola muestra de suero de IgG no tiene significado clínico, por lo que para medirla se necesita hacer pruebas en muestras pareadas (una tomada en la fase aguda de la enfermedad y la otra en la fase convaleciente) y debe detectarse un aumento de 4 títulos en el nivel de anticuerpos.⁽¹²⁵⁾

En resumen, en pacientes que estén en su cuadro febril, el método diagnóstico recomendado es el aislamiento viral o la identificación del genoma porque las pruebas serológicas son negativas. En la fase afebril el aislamiento viral no es exitoso y el diagnóstico serológico es el adecuado. La viremia puede persistir más tiempo en pacientes con una infección primaria que secundaria, posiblemente debido a una respuesta inmune más gradual.⁽¹³³⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*)

1.8.3 Definición de Casos por Laboratorio. (ver cuadro)

1.8.3.1 Caso confirmado.

- Aislamiento del virus de muestras de suero y/o de tejidos de autopsia.^(8, 9)
- Seroconversión de negativo a positivo o un aumento de 4 títulos o más en los anticuerpos en muestras de suero pareadas entre la fase aguda por inhibición de la hemaglutinación u otras pruebas.⁽⁹⁾
- Demostración del antígeno del virus del dengue en tejidos de autopsia o en muestras de suero por inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, hibridación o detección de su ácido nucleico.^(8, 9)

1.8.3.2 Caso primario confirmado.

- Caso con una IgM positiva a una densidad óptica > 0.20 en una muestra de fase aguda (≤ 5 días del comienzo de la enfermedad) y sin anticuerpos IHA antidengue (título $<$ de 10) pero con un suero de fase convaleciente (más de 7 días después del comienzo) con un título IHA ≤ 1280 .⁽¹⁰⁴⁾ En donde se hace IHA.
- Caso en el cual el virus fue aislado de una muestra de fase aguda sin anticuerpos antidengue detectables por inhibición de la hemaglutinación o por IgG ELISA.⁽⁸⁾

1.8.3.3 Caso secundario confirmado.

- Un caso con muestra de fase aguda positiva para IgM y con niveles detectables por Inhibición de la Hemaglutinación; además una muestra de suero de fase convaleciente con títulos IHA \geq a 2.560.^(9, 104) En donde se hace IHA.
- Caso en el cual el virus es aislado de una sola muestra de fase aguda que contiene también anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación.⁽⁸⁾

1.8.3.4 Caso probable de dengue.

- Con niveles de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación en muestras pareadas de suero combinadas con una IgM positiva en cualquier muestra.
- Con una sola muestra de suero sometida al laboratorio, positiva para IgM o con títulos de anticuerpos inhibidores de hemaglutinación ≥ 1280 o un título de anticuerpo de IgG por ELISA ≤ 640 .⁽⁹⁾ En donde se hace IHA.
- Presencia en la misma localidad y en el mismo período de otros casos confirmados de dengue.⁽⁹⁾

1.8.3.5 Casos negativos.

En muestras recolectadas seis o más días después del comienzo de los síntomas, la ausencia de IgM descarta el diagnóstico de dengue y el caso es considerado como negativo; lo mismo que si no hay cambio en la respuesta de anticuerpos por IHA entre dos muestras tomadas con un intervalo \geq a 7 días y con títulos \leq a 1280.⁽¹⁰⁴⁾ En donde se hace IHA.

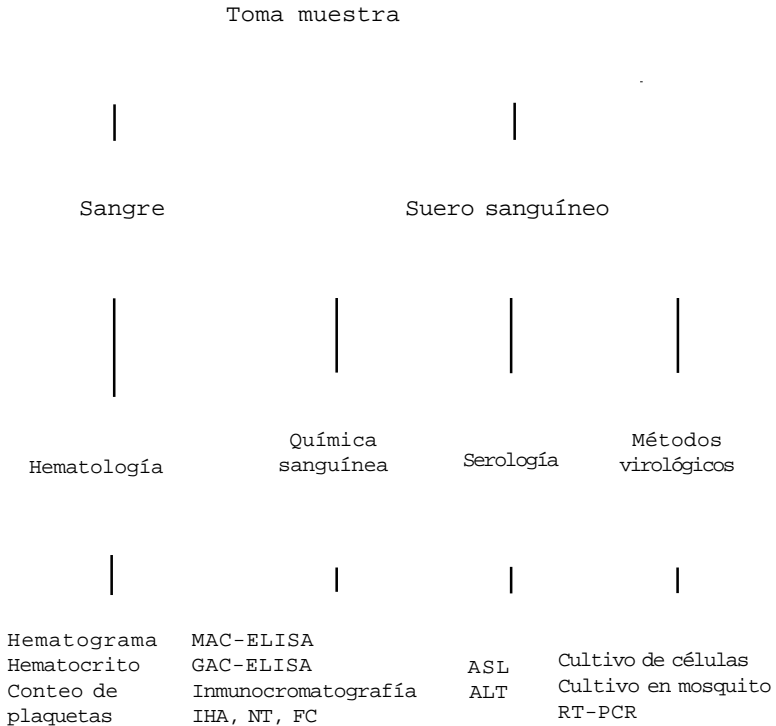
1.8.3.6 Casos no interpretables

Son definidos como: aquellos con muestra negativa para IgM,

recolectada antes de los 6 días de comienzo de los síntomas; aquellos sin cambios en los títulos, de muestras tomadas con un intervalo < a 7 días y con títulos en fase convaleciente \leq a 1280 o aquellos con una sola muestra con títulos \leq a 1280.⁽¹⁰⁴⁾

Figura 2.

Diagnóstico por laboratorio del Dengue



1.9 PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención y el control del dengue y el DH se convirtieron en urgentes por la expansión de la distribución geográfica y por la incidencia aumentada de la enfermedad en los últimos 20 años.⁽¹²³⁾

Mientras no haya vacuna disponible, la prevención efectiva del dengue clásico y hemorrágico depende de varios componentes integrados de actividades que incluyen: lucha antivectorial centradas en el ambiente hospitalario y peridomiciliario, aplicación de insecticidas para controlar la población adulta de mosquitos, control sostenible de las poblaciones de *Aedes aegypti* que puede lograrse a través de la participación comunitaria con la recolección y eliminación de los recipientes de uso doméstico que sirven de criaderos; esto debe estar acompañado de campañas de higiene y limpieza del medio y una vigilancia activa basada en el laboratorio que reúna y disemine información actualizada sobre la población susceptible, los serotipos víricos circulantes y la distribución espacial del vector.^(123, 138) **Por lo tanto es importante para la prevención, la notificación de los casos probables y confirmados a las oficinas de epidemiología municipales y departamentales.**

También es importante educar a la población sobre la protección contra las picaduras de los mosquitos de actividad diurna, con el empleo de mosquiteros en puertas y ventanas, el uso de ropa protectora y de repelentes; educar a la comunidad médica de manera que se asegure un manejo efectivo de los casos, se evite el acceso de mosquitos de actividad diurna a los pacientes hasta que ceda la fiebre, protegiendo su cama con mosquiteros ojalá impregnados de insecticidas.^(123, 139)

Para prevenir la enfermedad, es importante el monitoreo de poblaciones de *Aedes aegypti* y de *Aedes albopictus*; éste se basa en el estudio de los estados juveniles (huevo, larva y pupa) que por su condición de vida acuática pueden ser ubicados fácilmente en las acumulaciones de agua de los alrededores y el interior de las viviendas;⁽³⁶⁾ su reducción o eliminación es efectiva para controlar los mosquitos que transmiten el dengue.⁽¹²³⁾

La vigilancia entomológica es la herramienta que permite identificar las áreas con mayor densidad poblacional o las épocas del año en que ésta se eleva, así como comprobar la ausencia

de los mosquitos vectores en poblados y establecer la susceptibilidad de la población. Los tres índices entomológicos de uso generalizado, aplicables al estudio de *Aedes* con relación al dengue donde la unidad básica de muestreo es la casa, son:⁽⁹⁾

- **Índice de casa:** es el porcentaje de casas infestadas con larvas, pupas o ambos estados de desarrollo del *Aedes aegypti* o de *Aedes albopictus*.

$$I.C. = \frac{\text{Casas infectadas} \times 100}{\text{Casas inspeccionadas}}$$

En este caso se revisan los contenedores de la vivienda y sus alrededores.

- **Índice de recipiente:** es el porcentaje de contenedores con agua examinados que contienen larvas o pupas de *Aedes aegypti* o de *Aedes albopictus*:

$$I.R. = \frac{\text{Número de contenedores positivos} \times 100}{\text{Número de contenedores inspeccionados}}$$

En este índice se revisan todos los contenedores con agua de los alrededores y del interior de la vivienda.

- **Índice de Breteau:** es el número total de recipientes con larvas, pupas o ambos de *Aedes aegypti* o de *Aedes albopictus* por 100 casas:

$$I.B. = \frac{\text{número de contenedores positivos} \times 100}{\text{casa inspeccionadas}}$$

En este caso se revisan y registran todos los contenedores positivos a cada especie vectora, analizando el total en relación con las casas^(36, 37) (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*)

Se deben reducir en forma enérgica los criaderos de mosquitos *Aedes*. Se deben evitar las aguas estancadas o los utensilios para almacenar agua. Los repelentes, los anjeos en las puertas y ventanas y el uso de mosquiteros para dormir son útiles para controlar la picadura de mosquitos.⁽²⁰⁾ En un estudio se comprobó que de todos estos factores, el uso de anjeos en puertas y ventanas fue el principal factor protector contra la infección de dengue y más alto en aquellos casos donde las puertas con anjeo se abrían hacia el exterior ⁽¹⁴⁰⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*).

Los criaderos de larvas son más frecuentes en los recipientes artificiales que en otro tipo de contenedores naturales. Los recipientes se clasifican en: a) recipientes artificiales para el

Dengue y Fiebre amarilla

almacenamiento de agua o controlables (pozos, albercas, cisternas, tanques, llantas, bebederos de animales); b) recipientes artificiales desechables (llantas usadas de vehículo, utensilios domésticos, envases, botellas, materos quebrados, jarras, latas etc.); c) recipientes artificiales ornamentales (floreros, fuentes etc.); d) estructuras arquitectónicas (tejas, discontinuidades del piso, canales etc.); e) contenedores naturales cercanos a las viviendas como huecos de árboles, cañas de bambú y huecos de roca.^(36, 37) El objetivo de la participación comunitaria en el control y prevención del dengue es la reducción de los criaderos de las larvas de los mosquitos. Los utensilios externos clasificados como desechables deben ser eliminados. Los utensilios controlables, considerados útiles pero poco usados, pueden ser guardados bajo techo y las botellas colocadas boca abajo. Las llantas deben ser amontonadas y cubiertas y se les puede aplicar aceite para que se mezcle con el agua remanente dentro de ellas.^(141,142) (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*). Los utensilios internos como: tanques, pocetas, canecas de agua, floreros, baldes y bases de materas, deben ser limpiados y restregados cada 3 a 5 días para eliminar los huevos que pueden quedarse pegados a las paredes del contenedor a pesar de cambiarle el agua.^(141,142, 143) (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*).

Hay contenedores que pueden servir para la crianza de un número pequeño de individuos en lapsos muy cortos, otros que soportan pocos individuos pero mantienen una productividad continua a lo largo del año, otros que soportan densidades poblacionales muy altas por lapsos cortos y otros, durante el año. Las llantas usadas son los contenedores más productivos y persistentes durante todo el año⁽³⁶⁾, al igual que los pozos y tanques de agua que pueden producir grandes cantidades de larvas de *Aedes aegypti*⁽¹⁴⁴⁾ (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*). Como es difícil eliminar todos los criaderos potenciales, más si el presupuesto para el programa de vigilancia y control del vector es limitado, se deben enfocar los esfuerzos para el control poblacional hacia los contenedores más productivos, igual que hacia las casas encontradas previamente positivas en los sistemas de vigilancia, por la alta posibilidad de que mantengan criaderos positivos después de un tiempo de la intervención.^(143, 144) (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*).

Una necesidad primordial para el control de *Aedes aegypti* es dotar a toda la población de servicios básicos adecuados y evitar que las poblaciones se queden sin agua por períodos prolongados

que obliguen a almacenarla. Debe haber una recolección rutinaria de basuras, para evitar la acumulación de recipientes que puedan servir de criaderos de mosquitos. Además está comprobado que la falta de acueducto o las interrupciones en el suministro de agua, aumentan el número de criaderos.⁽³⁷⁾ (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*). La combinación del programa dirigido a eliminar los principales criaderos de larvas unido a un adecuado servicio básico ambiental tienen el potencial de reducir el 80 % de fuentes posibles de mosquitos.^(143, 145) (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*)^(142, 146) (*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*)

Como las medidas convencionales para limitar la proliferación de la enfermedad han fallado en parte por el colapso de la infraestructura de salud y del control del mosquito en muchos países en desarrollo, se están considerando nuevas estrategias de control incluyendo la alteración genética de los mosquitos vectores para disminuir la rápida proliferación de los patógenos transmitidos por vectores. Una estrategia es prevenir la replicación del virus del dengue en el intestino medio y en las glándulas salivares del mosquito, por expresar parte del propio material genético del virus en estos órganos y establecer inmunidad intracelular a él.⁽¹⁴⁷⁾ (*Nivel de evidencia III.1*)

1.9.1 Desarrollo de vacunas.

Hasta la fecha no hay vacuna disponible para proteger contra las infecciones por dengue. La principal preocupación en el desarrollo de la vacuna, es una respuesta inmunológica en el vacunado que pueda llevar a producir FHD o SCD. La Organización Mundial de la Salud tiene como prioridad el desarrollo de una vacuna tetravalente⁽¹²³⁾ y en este momento está siendo probada en Tailandia una vacuna atenuada tetravalente en experimentos en fase I y II, con buenos resultados⁽²⁰⁾. Además se están haciendo pruebas inmunológicas para determinar la inducción de respuesta de anticuerpos neutralizantes específicos de virus y además la respuesta de células T predominantes que al parecer son linfocitos T citotóxicos CD4 y CD8, con algún grado de reacciones cruzadas para otros virus del dengue y otros flavivirus.⁽¹⁴⁸⁾ (*Nivel de evidencia III.1, Recomendación grado B*).

CUADRO DE DEFINICIÓN DE CASOS⁽⁹⁾

Para la definición de casos debe incluirse no solo las características clínicas de la enfermedad sino también la confirmación por parte del laboratorio

DEFINICIÓN DE CASOS DE FIEBRE POR DENGUE O DENGUE CLÁSICO

CASO PROBABLE	CASO CONFIRMADO	CASOS NOTIFICABLES
<p>A. CRITERIOS CLÍNICOS Enfermedad febril aguda en la que se observan dos o más de las siguientes manifestaciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cefalea - Dolor retroorbital - Mialgias - Artralgias - Erupción - Manifestaciones hemorrágicas <p>B. CRITERIOS DE LABORATORIO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Confirmación serológica (un título recíproco de anticuerpos IHA>1280 o un título de ELISA equivalente de IgG o una prueba IgM positiva en una muestra única de suero de fase tardía o convalecencia, correspondiente a uno o más antígenos de dengue); - O presencia en la misma localidad y en el mismo periodo de otros casos confirmados de dengue (CASO NOTIFICABLE) 	<p>Casos corroborados por las pruebas de laboratorio. Los criterios de confirmación son:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aislamiento del virus del dengue a partir de muestras de suero, material obtenido por autopsia o ambas. - Aumento mayor o igual a 4 veces los títulos de anticuerpos IgG o IgM contra uno o más de los antígenos del dengue en dos muestras de suero. - Demostración del antígeno viral en tejido de autopsia o en suero por inmunohistoquímica, inmunofluorescencia o detección de ácido nucleico vírico por técnicas de biología molecular. 	<p>Todos los casos probables y confirmados deben notificarse como casos de dengue a las autoridades de salud locales y nacionales</p>

DEFINICIÓN DE CASO DE DENGUE HEMORRÁGICO

Deben encontrarse todos los signos siguientes:

A. CRITERIOS CLÍNICOS

- Fiebre o antecedentes cercanos de fiebre aguda
- Manifestaciones hemorrágicas que incluyan por lo menos una de las siguientes:
 - Prueba del torniquete positiva
 - Petequias, equimosis o púrpura y
 - Hemorragias de las mucosas del tracto gastrointestinal, de los lugares de punción u otras

B. CRITERIOS DE LABORATORIO

- Trombocitopenia (<100.000 mm³)

Extravasación de plasma por aumento de la permeabilidad capilar que se manifiesta por uno de los siguientes:

- Hematocrito inicial >20% de los valores normales para sexo y edad correspondientes
- Descenso >20% del hematocrito después del tratamiento o signos asociados a la extravasación del plasma (derrame pleural, ascitis, hipoalbuminemia o hipoproteinemia).

CASO PROBABLE: Los mismos criterios diagnósticos de caso probable de dengue clásico.

CASO CONFIRMADO: Criterios clínicos corroborados por los hallazgos de laboratorio.

DEFINICION DE CASOS DE SINDROME DE CHOQUE POR DENGUE

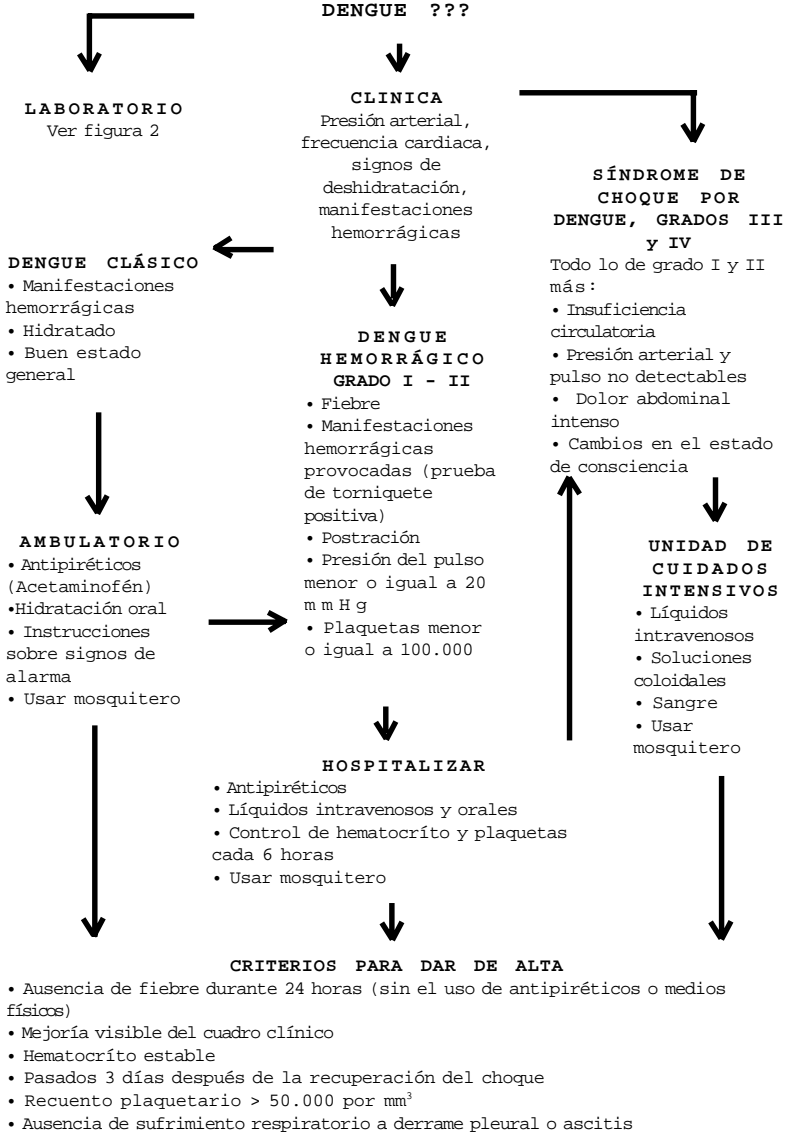
- Los cuatro criterios anteriores más evidencia de colapso circulatorio que se manifiesta por dos de los siguientes síntomas:
 - Pulso rápido y débil
 - Presión diferencial disminuida (20 mmHg o menos) o hipotensión en relación con la edad
- Piel fría y húmeda y alteración del estado mental **SHOCK DECLARADO**

CASOS NOTIFICABLES

Estos casos deberán cumplir los criterios anteriores más uno de los siguientes:

- Comprobación virológica o serológica de infección aguda por el virus del dengue, o historia de exposición en zonas endémicas o epidémicas de dengue.

ALGORITMO SOBRE EL MANEJO DE CASOS DE DENGUE



II. FIEBRE AMARILLA

2.1 INTRODUCCIÓN.

La Fiebre Amarilla (FA), posiblemente originada en el Oeste de Africa, es una enfermedad viral aguda, endémica en áreas tropicales de Africa y de las Américas; en el primero es un problema serio de salud pública.^(149, 150) Es causada por un arbovirus que produce compromiso hepático, hemorrágico y renal, frecuentemente fatal.^(4, 151)

La enfermedad presenta un amplio espectro de severidad, desde la infección subclínica que es frecuente (85% de todas las infecciones)⁽¹⁵²⁾ hasta el caso fatal de FA (5% de todas las infecciones).^(152, 153) La mortalidad asociada a la FA es del 1% si se incluyen las infecciones inaparentes⁽¹⁵⁴⁾, de 15-20% tomando como denominador todos los casos ictericos^{(155) (154)} y sube hasta el 50-80% en el grupo de los casos graves que requieren hospitalización.^{(153) (154)}

La FA es una enfermedad que se descuidó en las américas a partir de los años 40 por la campaña exitosa de erradicación de su vector urbano y la introducción de una vacuna eficaz.⁽¹⁵⁶⁾ Como consecuencia la investigación clínica y fisiopatológica es limitada (entre otras razones porque los casos ocurren en áreas muy apartadas y por la falta de un número suficiente de pacientes).⁽¹⁵⁵⁾ No se conocen los mecanismos exactos de las complicaciones graves⁽¹⁵⁴⁾ y las medidas terapéuticas utilizadas son en su mayoría sintomáticas y de sostenimiento; frecuentemente basadas en la experiencia clínica adquirida con el manejo de otras fiebres hemorrágicas.^(4, 153, 154)

2.2 ETIOLOGÍA

El virus de la FA es el prototipo del género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae* donde hay más de 70 virus, la mayoría transmitidos por artrópodos. Estos virus pueden dividirse dentro de 8 subgrupos serológicos^(23, 151) que comparten ciertos antígenos (por ejemplo con dengue, también un flavivirus)⁽¹⁵⁴⁾ lo que explica la reacción cruzada observada en algunas pruebas serológicas y a veces la inmunidad parcial en quienes han sido infectados por otros *flavivirus*.⁽¹⁵¹⁾

Dengue y Fiebre amarilla

La estructura viral es similar a la descrita para los virus del dengue. El diámetro del virión es aproximadamente 50 nm; posee una envoltura de lípidos y contiene una molécula de ARN de cadena única con polaridad positiva, que consta de 10,862 nucleótidos que codifican 3 proteínas estructurales y 7 proteínas no estructurales.^(23, 156, 157)

Con técnicas moleculares se ha podido mostrar la existencia de diferencias entre los virus de la FA y así clasificarlos en diferentes topotipos. Estos topotipos son característicos para las zonas geográficas donde se encuentran.⁽¹⁵⁶⁾ Las cepas de FA pertenecientes a un topotipo determinado parecen mostrar una estabilidad genética alta.^(155, 158)

2.3 EPIDEMIOLOGÍA.

2.3.1 Transmisión y reservorios.

En América Latina el virus de la FA persiste en las selvas en un ciclo enzoótico que incluye a primates no humanos y mosquitos del género *Haemagogus*, en especial *Haemagogus H. janthinomys*.^(153, 154, 159, 160) El mosquito se infecta cuando pica a un animal virémico y queda así de por vida.⁽¹⁶⁰⁾ Las hembras de *Haemagogus sp.* y de *Aedes sp.*, incluso las del *A. aegypti* transmiten el virus de la FA a una pequeña proporción de su descendencia; estos huevos podrían mantener el virus vivo durante largos períodos de sequía, cuando no hay suficientes vectores para asegurar la transmisión.^(153, 156, 160-162) Por eso los mosquitos han sido considerados como mejor reservorio que los primates, cuyas altas viremias de corta duración solo servirían para diseminar el virus.⁽¹⁵⁶⁾

En África, el virus también ha sido aislado en la naturaleza de los adultos y huevos de la garrapata *Amblyomma*, infecciosa para primates.^(153, 155, 156) Las garrapatas podrían servir como reservorios de larga duración y/o asegurar la diseminación del virus a grandes distancias.^(153, 156) Pero la importancia exacta de estos ciclos alternativos quedan por determinarse.^(153, 156)

En la FA epidémica o urbana los reservorios son el hombre y el *A. aegypti* tanto en las Américas como en el África.^(159, 163) Existe también un ciclo de transmisión intermedio en África, donde en ciertas regiones el vector tradicional del ciclo selvático es capaz de asegurar una transmisión epidémica de hombre a hombre, durante las estaciones lluviosas con tasas de infección de la población hasta 20 a 30%.⁽¹⁵⁵⁾ En este continente también hay índices de una

transmisión endémica de baja intensidad.⁽¹⁵⁴⁾ En las Américas los vectores selváticos que transmiten el virus de primates al hombre nunca alcanzan tan altas densidades como pueden ocurrir en África y las tasas de infección durante epidemias rurales son más bajas (1 a 2%).^(155,164-166)

En las Américas se sospecha que otros vertebrados como los marsupiales pueden funcionar como reservorios selváticos alternativos en regiones donde la población de monos está demasiado dispersa para mantener la transmisión. Se han encontrado altas tasas de seropositividad en este grupo de animales, pero su importancia en el ciclo de la FA no ha sido establecido.^(154-156, 167) En este continente se ha incriminado también al mosquito *Sabethes chloropterus* como vector.⁽¹⁵⁵⁾

En lo que concierne a la epidemiología humana, la OMS ha definido dos modalidades: la FA urbana y la FA selvática:

- FA urbana: cuando el vector es el mosquito *A. aegypti*, incluso si los casos se presentan en zonas rurales;
- FA selvática: cuando otros mosquitos diferentes al *A. aegypti* son involucrados, incluso cuando existe transmisión de hombre-mosquito-hombre.^(156, 159, 160)

2.3.2 Los vectores.

Los vectores incriminados en la transmisión selvática en América tropical son los mosquitos de las especies *Haemagogus*, *Aedes leucocaelenus* y *Sabethes*.^(154-156, 161, 165)

Las larvas y pupas de los mosquitos del género *Haemagogus* se encuentran en los huecos de los árboles.^(153, 159, 168) Los adultos, de actividad hematófaga diurna, habitan de preferencia en la copa de los árboles pero se les puede encontrar a nivel del suelo en particular en galerías forestales de árboles bajos y espaciados, al medio día, durante días soleados, durante la estación seca, a los límites del bosque o cuando se talan árboles.^(154, 169) Su dispersión generalmente coincide con área de bosque húmedo y tropical.⁽¹⁶⁸⁾ El *Haemagogus* persigue a veces a la gente hasta casi 300 metros fuera del bosque⁽¹⁶⁹⁾ y puede invadir plantaciones o pueblos situados cerca de la selva, donde pica dentro y fuera de las viviendas.⁽¹⁵⁶⁾ Por lo tanto, el ciclo vírico dependiente de este mosquito es en lo fundamental selvático, aunque no está restringido exclusivamente a áreas boscosas⁽¹⁵⁴⁾ lo que se confirma por la existencia de informes de la presencia de algunas especies de *Haemagogus* en áreas urbanas.⁽¹⁶⁸⁾ Además se detectó en 1997 en Bucaramanga en el

Dengue y Fiebre amarilla

área metropolitana, al mosquito *Haemagogus equinus* en criaderos artificiales (llantas como larvitrapas), lo que podría indicar un desplazamiento de este vector eficiente de la FA selvática hacia el domicilio humano.⁽¹⁷⁰⁾

Sabethes chloropterus^(155, 156, 165, 171) es otra especie selvática que vive en la bóveda arbórea y que se ha hallado naturalmente infectada con el virus de la FA. Este mosquito es relativamente resistente a las épocas secas y es activo durante todo el año. Este reservorio podría entonces ser una de las estrategias que utiliza el virus para sobrevivir las estaciones secas con sus bajas densidades poblacionales de otros mosquitos vectores.

Algunos textos mencionan también a *Aedes leucocaelenus*^(156, 172), otra especie selvática y finalmente cabe mencionar que el mosquito *Aedes albopictus*, ya señalado en Colombia^(35, 73) y en otros países de las Américas,⁽¹⁷³⁾ se considera como otro vector potencial de la FA.⁽¹⁵⁶⁾ Este mosquito, al contrario del *A. aegypti*, no solamente coloniza regiones con altas concentraciones poblacionales humanas sino también áreas periurbanas y rurales y zonas cercanas a los bosques. Podría así pasar el virus del ciclo selvático a las ciudades.^(72, 73)

El vector de la FA urbana es el *Aedes aegypti* que ya ha sido descrito en esta guía como vector del dengue. (véase en dengue).^(153, 154, 156, 161)

Luego de la ingestión de sangre infectada, la hembra del *A. aegypti* puede transmitir el virus después de un período de 8 a 12 días de incubación a una temperatura ambiente de 18°C. Este período de incubación es más corto cuando la temperatura ambiente es más alta y la transmisión se interrumpe cuando es más baja.⁽¹⁵⁶⁾ El mosquito permanece infectante el resto de su vida.⁽¹⁵⁶⁾ Se han encontrado diferencias en la capacidad vectorial para cepas diferentes del *A. aegypti*.^(155, 167)

2.3.3 Inmunidad

La enfermedad confiere inmunidad por largo tiempo y no se conocen casos de reinfecciones.^(154, 174) La inmunidad pasiva transmitida de la madre al niño, persiste hasta por seis meses.^(154, 174)

Se han encontrado índices que anticuerpos generados por infecciones repetidas con otros *flavivirus* pueden tal vez conferir un cierto grado de protección cruzada.⁽¹⁵⁴⁾ En Gambia en 1978-79

la tasa de infecciones inaparentes era más alta en individuos con estos anticuerpos que en los que no tenían este tipo de inmunidad.⁽¹⁵⁵⁾ En el laboratorio se encuentran viremias de FA menos altas en primates después de infección por el virus de Wesselsbron y se postuló este mismo fenómeno en seres humanos inmunes contra el virus Zika en Etiopía y Gambia.⁽¹⁶⁷⁾ Sin embargo, la vacunación contra FA no confiere inmunidad contra el dengue.⁽¹⁵⁴⁾

La inmunidad después de la vacunación contra la FA es también duradera y probablemente de por vida.^(152, 154) Se han encontrado anticuerpos neutralizantes hasta 35 años después ser aplicada la vacuna 17D.^(167, 175)

2.3.4 Importancia de la fiebre amarilla.

2.3.4.1 A nivel mundial.

En África hay FA entre los paralelos 15° N y 10° S. En América se mantiene entre los paralelos 10° N y 40° S donde han ocurrido y siguen ocurriendo numerosos brotes. La mayoría de los casos ocurren en Bolivia, Brasil, Colombia y Perú.^(154, 174, 176) No hay pruebas de casos de FA en Asia u otras regiones cálidas, pero se desconoce el porqué de este fenómeno.^(156, 174)

En las Américas la FA sigue circunscrita a zonas boscosas de las cuencas de los ríos Amazonas, Orinoco, Catatumbo, Atrato y Magdalena.^(153, 159) Aquí el ciclo enzoótico se mantiene en las selvas primarias mediante epizootias que se mueven continuamente dirigiéndose a nuevas zonas donde hay poblaciones de monos no inmunes que pueden ser infectados.⁽¹⁵⁶⁾ Se ha observado que existen picos en la actividad epizootica de la FA cada 8 a 10 años, aunque estos no se presentan de manera simultánea en los diferentes países.^(153, 156, 167) Estos picos causan brotes entre la población en zonas donde hay galerías forestales intercaladas con vegetación de tipo sabana. El virus también migró por Centroamérica periódicamente entre 1948 y 1957 pero estos movimientos parecen haber cesado quizás por causa de la deforestación.⁽¹⁵⁴⁾ La FA urbana no se ha presentado más en el continente desde 1942.^(153, 159)

En la década de los 80 se presentaron diferentes brotes severos en América y sobretodo en África, lo que se puede considerar un resurgimiento mundial de la FA.

La vigilancia de la FA humana en América está basada principalmente en una detección pasiva mediante el examen histopatológico de muestras de hígado de los casos fatales.⁽¹⁵³⁾ Además el diagnóstico

clínico es difícil durante la fase temprana de la infección, especialmente cuando hay solo casos esporádicos en regiones rurales donde no hay facilidades de laboratorio y donde se encuentran con frecuencia otras enfermedades como hepatitis viral, malaria y leptospirosis.^(153, 156) Se estima que en América Latina los casos informados oficialmente están 10 a 20 veces por debajo de lo que deben ser las cifras reales.^(152, 153, 159)

2.3.4.2 En Colombia.

Al principio del siglo en Colombia la FA era común en los puertos del Caribe, Buenaventura, Cúcuta y en las ciudades al lado del río Magdalena. Los últimos brotes conocidos de FA urbana fueron en Barranquilla (1912), en Cartagena (1919), en Buenaventura (1920), en Bucaramanga (1923) y en Socorro (1929).⁽¹⁷⁷⁾ Después de este año los casos de FA han sido siempre de la forma selvática.⁽¹⁷⁸⁾

La FA selvática es endémica en las regiones del piedemonte Oriental de la Cordillera Oriental, los Santanderes, la Guajira, la hoya del Catatumbo, las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta, la cuenca del río Atrato, las márgenes del río Guaviare, Arauca, Casanare, los valles de los piedemonte de la Cordillera Oriental del Magdalena Medio y Bajo, Urabá y desde 1990 del río Vaupés.⁽¹⁷⁸⁾ En los Llanos Orientales que hacen parte de la gran cuenca Orinoco-Amazonas, la FA ocurre en forma de olas que parecen viajar en los bosques de los piedemonte de la Cordillera Oriental.^(177, 179)

Colombia notificó un total de 367 casos entre 1965 y 1990.^(153, 180) En los últimos años se reportaron a la Oficina de Epidemiología del Ministerio de Salud 26 casos (12 entre 1991 y 1995, 9 en 1996 y 5 en 1997).^(70, 163, 181)

2.3.5 Factores de riesgo.

El hábitat limitado de la FA hace que la exposición humana al virus en América Latina sólo ocurra cuando una persona susceptible entra en una zona de intensa transmisibilidad selvática. Los trabajadores forestales tienen mayor riesgo, debido a que el corte de los árboles hace que los mosquitos bajen al nivel del suelo. También pueden ocurrir casos de FA selvática cuando mosquitos *Haemagogus* invaden plantaciones o pueblos situados cercanos de la selva.^(154, 156)

La enfermedad suele ocurrir con mayor frecuencia durante el fin de la época de lluvias cuando la densidad de los vectores es alta y la gente está cortando los bosques para preparar las tierras para la siembra.⁽¹⁵³⁾ Esto explica por qué la mayoría de los casos son adultos

jóvenes con edad comprendida entre 15 y 40 años y por qué los hombres son afectados con una frecuencia de más de cuatro veces que las mujeres, aunque ambos sexos son igualmente sensibles a la infección.⁽¹⁸²⁾ Militares y colonos no vacunados que migran de zonas no endémicas a regiones endémicas son también grupos de alto riesgo (por ejemplo en años recientes en Perú, habitantes de regiones costeras o de zonas montañosas quienes migraron a tierras endémicas bajas han sido víctimas de epidemias severas).^(153, 154, 183) Excepcionalmente los niños y las mujeres, pueden ser los grupos más afectados durante epidemias (Bolivia, 1981; Brasil, 1993-94).^(156, 165)

El grado de infestación por *Aedes aegypti*, en conjunto con un nivel bajo de inmunidad de la población son factores de riesgo para la urbanización de la FA. Se considera poco probable la transmisión urbana de la FA si el índice de Breteau (número de recipientes positivos para larvas por 100 viviendas) es menor de 5, el índice de vivienda (porcentaje de viviendas positivas para larvas) es menor de 4 y el índice de recipiente (porcentaje de recipientes con agua positivos) es menor de 3. En el caso de que estos números sean respectivamente superiores a 50, 35 y 20 existe un alto riesgo de transmisión de la FA.^(16, 156) Para los factores que favorecen las altas infestaciones con *Aedes aegypti* refiérase a la "Epidemiología del dengue". Otros factores que podrían intervenir en una urbanización de la FA son los títulos y la duración de la viremia en casos humanos eventuales y la competencia vectorial de la cepa de *A. aegypti* presente en la ciudad.⁽¹⁶⁷⁾

2.3.6 Evolución anticipada.

La importancia de la FA radica en la amenaza de una urbanización de la enfermedad aunque no se conocen bien sus mecanismos exactos. No se comprende el por qué ocurrieron brotes muy cercanos de centros urbanos como en Valledupar y por qué no estallaron epidemias urbanas, cuando habían pacientes virémicos hospitalizados sin protección antimosquito, en varias ocasiones y en ciudades donde existían altas densidades poblacionales de *Aedes aegypti*.^(154, 156, 177)

El riesgo de una urbanización se ha aumentado en los últimos años y está relacionado con los medios de transporte modernos rápidos que pueden introducir personas virémicas o mosquitos infectados en los centros urbanos (turismo selvático, trabajadores que viajan con frecuencia entre la ciudad y su vereda), con el crecimiento demográfico en zonas enzoóticas, con el aumento de la infestación

Dengue y Fiebre amarilla

por *A. aegypti*, con las bajas coberturas de la vacunación anti-fiebre amarilla, con la resistencia a los insecticidas del vector y con el aumento del costo de los programas de control. El desplazamiento de personas infectadas significa un riesgo importante puesto que la fase virémica en el ser humano es de 4 a 12 días después del inicio de los síntomas situándose en la fase pre-ictérica cuando es difícil reconocer la enfermedad y el paciente todavía no se siente demasiado enfermo para viajar. ^(153, 154, 159, 173)

Aunque la incidencia de la FA se ha mantenido estable durante los últimos 30 años en Colombia (excepción hecha para la época 1970-79 con 270 casos), hay motivos para preocuparse. La reinfestación por el *A. aegypti* de zonas situadas cerca de las selvas donde la FA es enzoótica ha creado nuevas poblaciones con riesgo de epidemias. Se aumentó la posibilidad de una urbanización de la enfermedad por la lucha socio-política-económica que favorece los procesos migratorios, y ^(153, 159, 179, 184) las coberturas de la vacuna contra la FA en el país siguen bajas. En 1997 se encontró durante encuestas una cobertura de vacunación anti-fiebre amarilla de 35.2% en Villavicencio, de 40.1% en Granada (Meta) Ministerio de Salud-INS, 1997 #185) y de 24.3% ⁽¹⁸³⁾ en Barrancabermeja. El Servicio de Salud de Santander estimó la cobertura de vacunación anti-fiebre amarilla global en los municipios de riesgo de FA en 13.5%, con un rango entre el 1.18% y el 44.5%. ⁽¹⁸³⁾

2.4 PATOGÉNESIS

La mayor parte de la información disponible sobre la patogénesis de la FA viene de estudios efectuados en monos rhesus. En estos animales el antígeno viral se detecta primero en los nódulos linfáticos regionales donde el virus se multiplica. Después sigue la diseminación por vía hematógena y hay replicación en diversos órganos (hígado, bazo, músculos estriados, riñones, médula ósea). Se ha detectado también antígeno viral en las células de Kupffer y en algunas células del sistema reticuloendotelial en el bazo y en los nódulos linfáticos 24 horas después de la inoculación. ^(154, 156) El virus de la FA se replica *in vitro* en monocitos, linfocitos y cultivos de líneas celulares semejantes a macrófagos e *in vivo* en macrófagos y linfocitos. ⁽¹⁵⁶⁾ Esto sugiere que los leucocitos mononucleares tienen un papel importante en la replicación y podría explicar la observación de necrosis linfocítica en los centros germinativos (región de células B) del bazo y en los ganglios linfáticos (*Nivel de evidencia III.3*). ⁽¹⁶⁷⁾ Lesiones de tal naturaleza podrían facilitar la entrada de bacterias y contribuir así a la muerte (teoría, no hay evidencia). ⁽¹⁶⁷⁾

En los monos rhesus entre 24 y 48 horas después de comenzar la infección, se reduce el glucógeno en los hepatocitos y a las 72 horas muchas células de Kupffer se están degenerando, siendo más patente la alteración de los hepatocitos.⁽¹⁵⁴⁾ La infección del parénquima hepático se produce probablemente por vía hematógena y por propagación directa desde macrófagos hepáticos.^(154, 155) En el hombre también el hígado parece ser el principal órgano afectado como lo muestran los hallazgos patológicos. En los pacientes que sobreviven el parénquima hepático se recupera sin formación de fibrosis.⁽¹⁵⁶⁾ (Véase Histopatología)

Son manifiestas las lesiones del hígado y del riñón, pero aún son oscuros los mecanismos causantes. Se piensa que las lesiones observadas en el miocardio de monos rhesus (degeneración granular y necrosis de las células musculares) se deben a la multiplicación del virus en este órgano (*Nivel de evidencia III.3*). La degeneración del tejido cardiaco podría contribuir al desarrollo de choque (teoría, no hay evidencia).⁽¹⁵⁶⁾

La naturaleza de las manifestaciones hemorrágicas parece compleja. No se sabe si hay lesión directa del endotelio vascular o una disfunción de las plaquetas inducida por el virus mismo. Estudios sugieren la posible presencia de coagulación intravascular diseminada. Los enfermos graves presentan a veces marcada trombocitopenia, tiempos prolongados de coagulación de la sangre y de protrombina, escasa concentración de fibrinógeno y retracción deficiente de coágulos. Además, en estos pacientes pueden estar deprimidos los factores de coagulación II, V y VII y los factores X, VIII, IX, XII y XIII; sin embargo, no se han encontrado productos de escisión del fibrinógeno o de la fibrina. La síntesis menor de factores de coagulación por lesión hepática probablemente tiene un papel importante en las complicaciones hemorrágicas^(154, 156) (*Nivel de evidencia III.3*)

La azoemia y la oliguria durante la enfermedad son de origen prerrenal. La albuminuria es característica en la fase temprana de la enfermedad y se ha demostrado infección viral del riñón mediante técnicas de inmunohistoquímicas. Solamente en la fase terminal se produce una necrosis tubular debido al choque.^(155,156,185) (*Nivel de evidencia III.3*)

Dengue y Fiebre amarilla

En la fase terminal de la enfermedad en el hombre hay agitación, manía, delirio, convulsiones y coma. Sin embargo, no se ha encontrado inflamación ni invasión del sistema nervioso central por el virus. Estos síntomas podrían ser causados entre otros por hemorragias perivasculares, encefalopatía metabólica y edema cerebral que probablemente actúan todos simultáneamente como consecuencia de la insuficiencia hepática y cardiovascular en las horas finales, antes de la muerte^(155, 156) (Nivel de evidencia III.3)

2.5 ASPECTOS CLÍNICOS

El período de incubación es de 3 a 6 días, posterior a este la enfermedad se hace manifiesta.⁽¹⁰³⁾ (Nivel de evidencia IV). Se han informado algunos casos anecdóticos, donde no ha sido posible definir el momento de la exposición, por lo tanto el periodo de incubación también es desconocido.

Un grupo de pacientes sufre la infección de forma subclínica. Esto es posible afirmarlo ya que muchas personas residentes en áreas donde se ha desarrollado una epidemia, cuentan con anticuerpos para fiebre amarilla, sin haber presentado síntomas relacionados.⁽¹⁶⁴⁾ (Nivel de evidencia IIII.3)

Solo 1 de 20 pacientes desarrolla los síntomas clásicos de la enfermedad asociados a ictericia.^(103, 164) (Nivel de evidencia IV y III.3)

Clásicamente se describen tres periodos durante el desarrollo de la enfermedad.

2.5.1 Período de infección

Durante este periodo, el virus permanece en altas concentraciones en la sangre. El paciente presenta fiebre, escalofrío, cefalea intensa, dolor lumbar, mialgias, náusea y adinamia severa que pueden llevarlo a la postración. El examen físico revela disociación entre la temperatura y el pulso (signo de Faget), hiperemia conjuntival, signos de deshidratación (lengua saburral, mucosas secas etc.) y dolor a la palpación abdominal. La duración de este periodo es de 1 a 3 días. Los exámenes de laboratorio revelan leucopenia (1 a 1.5 por 10⁹/L).

2.5.2 Período de remisión

Durante el tercero o cuarto día, el paciente presenta mejoría transitoria, la fiebre remite y los síntomas disminuyen hasta por 48 horas.

2.5.3 Período de intoxicación

Se inicia con un nuevo aumento de la temperatura y marcado deterioro del estado general. El hígado es el órgano más afectado y la severidad del compromiso diferencian la fiebre amarilla de otras fiebres hemorrágicas de origen viral. En los casos fatales los niveles de bilirrubina aumentan en los primeros 3 días alcanzado su pico entre el día sexto y octavo cuando las condiciones del paciente son críticas. En los casos no fatales la hiperbilirrubinemia aparece más tarde y disminuye rápidamente. Las aminotransferasas (AST y ALT) se elevan. Algunas veces el aumento de la Aspartato Aminotransferasa (ALT) es mayor que el de la Alanino Aminotransferasa (AST) debido probablemente al compromiso miocárdico más que al hepático. La fosfatasa alcalina permanece normal o ligeramente aumentada.

Son múltiples los trastornos producidos por la necrosis hepática: alteraciones en la coagulación, en la contractilidad y conducción miocárdica, metabólicas, renales y neurológicas.

El paciente se torna icterico. Aparecen diferentes fenómenos hemorrágicos, siendo característico el "vomitito negro" (hematemesis), epistaxis y gingivorragia. Simultáneamente hay bradicardia e hipotensión que pueden progresar hasta choque. Como consecuencia sobreviene necrosis tubular aguda, oliguria y acidosis metabólica. En las formas leves de la enfermedad el compromiso renal se manifiesta por oliguria y albuminuria, mientras que en las formas graves progresa a anuria y uremia.

El compromiso neurológico se hace aparente con agitación, delirio, convulsiones, estupor y coma. Aunque ha sido demostrada la infección directa del SNC por el virus, la mayoría de las manifestaciones son debidas a encefalopatía metabólica y edema cerebral. La mortalidad en los pacientes que desarrollan ictericia ha sido informada entre 20 y 85%, ocurriendo entre el séptimo y décimo día después de iniciada la enfermedad.

Los siguientes hallazgos clínicos se asocian con mal pronóstico:

- Temperatura muy alta al inicio de la enfermedad. Progreso rápido

Dengue y Fiebre amarilla

al periodo de intoxicación con aumento acelerado de la bilirrubina.

- Trastorno severo hemorrágico con presencia de coagulación intravascular diseminada.
- Falla renal con necrosis tubular aguda.
- Presencia temprana de hipotensión.
- Choque.
- Coma y convulsiones.
- Hipo intratable.

(103, 150, 153, 176, 186, 187) *(Nivel de evidencia III.3 y IV)*

2.5.4 Complicaciones

Son múltiples las complicaciones relacionadas con la fiebre amarilla. Las más frecuentes son: parotiditis, arritmias cardiacas secundarias al compromiso miocárdico e infecciones bacterianas del tracto gastrointestinal y respiratorio, sepsis, etc.

La insuficiencia renal es responsable de la muerte de muchos pacientes, principalmente en áreas alejadas donde no se dispone de recursos para la vigilancia e intervención de este proceso. Algunos pacientes permanecen con las transaminasas elevadas por varias semanas, pero luego regresan a niveles normales.

2.6 TRATAMIENTO

Hasta el momento no se dispone de terapia antiviral específica y los estudios clínicos disponibles no son suficientes para hacer recomendaciones basadas en grados de evidencia de primer orden. Las recomendaciones aquí descritas han sido recuperadas de la opinión de expertos. (103, 153, 176: McFarland, 1997 #233, 188, 189)

(Recomendación grado C)

Para reducir la morbimortalidad asociada a la enfermedad se recomienda hospitalizar al paciente en la unidad de cuidados intensivos. La vigilancia del paciente debe ser estrecha.

No existe un tratamiento específico para la fiebre amarilla. El objetivo principal es ofrecer al paciente terapia de sostenimiento y manejar las complicaciones de la enfermedad (daño hepático, choque y hemorragias)

2.6.1 Tratamiento de la falla hepática

El médico debe estar alerta a los síntomas y/o signos que sugieren descompensación hepática del paciente. Son necesarios controles frecuentes de los tiempos de coagulación (TP, TPT); evitar la hipoperfusión y el uso de medicamentos que actúen sobre el sistema nervioso central (benzodiazepinas y barbitúricos), que pueden precipitar o agravar el compromiso encefálico. Se recomienda mantener el aporte calórico necesario y evitar la hipoglicemia.

2.6.2 Tratamiento del choque

Es indispensable establecer un control horario de presión arterial, frecuencia cardiaca, líquidos administrados y eliminación urinaria. En algunos casos puede instalarse un catéter de Swan Gans o de Presión Venosa Central que permita un control más estricto. Exámenes como electrolitos, pH y gases arteriales son esenciales para identificar cualquier desequilibrio susceptible de ser corregido.

En los pacientes con hipotensión, es necesario identificar la causa (deshidratación, secuestro de líquidos, hemorragia, etc.) para establecer un tratamiento efectivo. En los casos de deshidratación y secuestro de líquidos el volumen debe ser reemplazado usando Solución Salina Normal o Hartman.

El uso de Dopamina (2-20 mg/kg/min) está indicado en aquellos pacientes que a pesar de la reposición del volumen intravascular con líquidos intravenosos o sangre (según sea el caso), continúan en estado de choque. La dilución estándar de Dopamina se prepara mezclando 400 mg de Dopamina en 250 ml de Dextrosa al 5%, para pasar en infusión continua. La dosis administrada debe estar de acuerdo con el efecto deseado (dosis renales \leq 4 mg/kg/min, efecto inotrópico 4-8 mg/kg/min y efecto vasoconstrictor $>$ 8 mg/kg/min.). En los pacientes que presentan bradicardia está indicado el uso de Dobutamina (2.5-20 mg/kg/min), por su efecto inotrópico positivo. La solución estándar se prepara mezclando 500 mg de Dobutamina en 250 ml de Dextrosa al 5%, para administrar en infusión continua. La dosis usada debe estar de acuerdo con la respuesta clínica, iniciando con las dosis menores.⁽¹⁸⁹⁾ (Recomendación grado C)

Para controlar la fiebre se recomienda acetaminofén. El ácido acetilsalicílico está contraindicado debido a que favorece los

fenómenos hemorrágicos, empeora la acidosis y causa irritación de la mucosa gástrica.

2.6.3. Tratamiento de la hemorragia

El uso de sonda nasogástrica y bloqueadores H_2 está indicado para reducir el riesgo de sangrado del tracto digestivo superior.

Existe controversia en el tratamiento de la coagulopatía asociada a la fiebre amarilla. La disminución en la síntesis de los factores de coagulación por parte del hígado es el factor más importante, responsable de la coagulopatía. En los pacientes que no presentan sangrado activo, está indicada la transfusión de plasma fresco congelado para reemplazar los factores de coagulación perdidos y mantener el tiempo de protrombina entre 25 y 30 segundos. En caso de sangrado severo o caída brusca del hematocrito se debe administrar sangre total fresca. Si existe trombocitopenia deben transfundirse plaquetas de reemplazo.

La heparina podría disminuir la severidad del sangrado en los pacientes con CID. Está indicado el uso de heparina en los pacientes que sufren fenómenos trombóticos o que a pesar de un tratamiento energético, continúan sangrando. La dosis de heparina debe ser individualizada de acuerdo con los controles de tiempo parcial de Tromboplastina (TPT). Ejemplo: iniciar con una dosis de carga de 15 a 25 U/kg intravenosas, directas. Continuar con una dosis de sostenimiento de 5-15 U/kg/hora en infusión continua (el TPT debe mantenerse 1.5 a 2 veces por encima del valor normal).

En los casos de necrosis hepática fulminante no se ha demostrado que la administración de vitamina K sea efectiva. Son frecuentes las complicaciones infecciosas por lo cual se debe estar alerta para establecer el tratamiento antibiótico adecuado.

2.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

De acuerdo con el área geográfica, son múltiples las enfermedades que se incluyen en el diagnóstico diferencial de la fiebre amarilla (tabla 1).

En la fase aguda, es difícil diferenciar solo por los hallazgos clínicos una enfermedad de otra, incluso durante períodos de epidemia. Es necesario confirmar el diagnóstico a través del laboratorio.^(103, 153, 160, 176) (*Nivel de evidencia IV*)

2.8 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico específico de fiebre amarilla depende del aislamiento del virus en sangre, la demostración del antígeno viral en suero por ELISA o del RNA viral por RT-PCR, durante la infección.⁽¹⁰³⁾ El virus

generalmente no se detecta en sangre durante la fase tardía de la enfermedad, tiempo en el cual se detectan los anticuerpos.

2.8.1 Muestras

Las muestras para el diagnóstico pueden ser suero o tejido. Las muestras de suero de pacientes virémicos, deben ser conservadas en refrigeración por un máximo de 5 días o a menos 80 grados centígrados si la demora para ser aislado por cultivo celular o por inoculación en ratones o mosquitos va a ser mayor. En caso de inmunohistoquímica el tejido puede estar incluido en parafina.⁽¹⁹⁰⁾

Tabla 1.

Diagnóstico diferencial de fiebre amarilla severa

Infecciones parasitarias

Malaria

Infecciones bacterianas

Fiebre tifoidea

Leptospirosis

Infecciones por Rickettsias

Tifo

Fiebre Q

Infecciones virales

Hepatitis B

Hepatitis Delta

Otras fiebres hemorrágicas:

Ebola (no en América, pero de riesgo en viajeros)

Fiebre hemorrágica Boliviana

Fiebre de Lassa (no en América, pero de riesgo en viajeros)

Dengue hemorrágico

2.8.2 Histopatología

Nunca se debe intentar hacer biopsia hepática en pacientes ictericos críticamente enfermos, por la posibilidad de complicaciones hemorrágicas. El examen patológico del hígado provee un diagnóstico postmortem. Los marcadores histopatológicos característicos compatibles con el diagnóstico de la fiebre amarilla son:

- 1) Necrosis de los hepatocitos en el 80% de los lóbulos; necrosis masiva mediazonal con una capa de hepatocitos viables a nivel periportal y pericentral. En algunas áreas los hepatocitos

Dengue y Fiebre amarilla

pericentrales también pueden presentar necrosis.

- 2) Células centrolobulares con vacuolización fina, múltiples cambios microvasculares. Degeneración eosinofílica con estructuras citoplasmáticas eosinofílicas redondeadas, bien definidas llamadas Cuerpos de Councilman.⁽¹⁹⁰⁾
- 3) Acumulación de grasa en el citoplasma; inclusiones intranucleares eosinofílicas (cuerpos de Torres); deposición de pigmento en las células de Kupffer (cuerpos de Villela).
- 4) Puede no haber infiltrado inflamatorio o degeneración difusa y severa⁽¹⁵⁰⁾, (*Nivel de evidencia III3, Recomendación grado C*)

El diagnóstico de fiebre amarilla no se debe hacer basado solamente en los hallazgos histopatológicos del hígado. El examen patológico debe ser suplementado con inmunohistoquímica^(103, 185). Los cambios patognomónicos únicamente se ven durante la fase aguda de la enfermedad, más tarde en el curso clínico pueden ser reemplazado por una necrosis inespecífica masiva⁽¹⁵⁰⁾ (*Nivel de evidencia III3, Recomendación grado C*)

2.8.3 Diagnóstico serológico

La detección de la IgM por pruebas de ELISA de captura, es el método recomendado. Los anticuerpos IgM aparecen 3 a 4 días del comienzo de la enfermedad y persisten por 2 a 3 meses^(103, 156, 190-192). El aumento de 4 veces el título de anticuerpos séricos por las técnicas de inmunofluorescencia, neutralización e inhibición de la hemaglutinación, son diagnóstico pero requieren la toma de sueros pareados, en la fase aguda y en la convaleciente, con un intervalo de 8 días.^(176, 186) También puede hacerse el diagnóstico de infección reciente por pruebas de fijación de complemento.⁽¹⁹¹⁾

Ocurren reacciones cruzadas con otros flavivirus como el dengue, lo que complica la interpretación de todas las anteriores pruebas serológicas. Se deben incluir antígenos de dengue y otros flavivirus en las pruebas serológicas para comparar la reactividad. La prueba de neutralización da una mayor especificidad, pero pocos laboratorios tienen la capacidad de hacer esta prueba.

2.8.4 Diagnóstico virológico

2.8.4.1 Aislamiento viral

El aislamiento del virus de la fiebre amarilla en sangre o en tejido confirma el diagnóstico.^(160, 176) Puede hacerse por inoculación del

suero diluido 1:10 en células de mosquito C6/36 (*Aedes albopictus*), AP61 (*Aedes pseudoscutellaris*) o en células de mamíferos como las VERO las células son examinadas para cambios citopáticos y los antígenos virales son detectados en los cultivos por inmunofluorescencia indirecta, después de 7 días de incubación a 28°C, usando anticuerpos monoclonales específicos contra el virus de la fiebre amarilla o líquido ascítico hiperinmune de ratón contra el virus de la fiebre amarilla y un conjugado de fluoresceína anti-IgG de ratón^(164, 190) (Nivel de evidencia III.3, Recomendación grado C). También se pueden cultivar las muestras por inoculación intracerebral en ratón de 2 a 3 días de nacidos.⁽¹⁷⁶⁾ El cerebro de los ratones enfermos o muertos son examinados directamente por inmunofluorescencia y/o pasados a cultivos celulares para su identificación.

2.8.4.2 Detección de proteínas

Se hace por pruebas de inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales o policlonales antiproteína de la envoltura, utilizando enzimas como la fosfatasa alcalina en muestras de hígado, riñón y corazón fijadas con formol.^(103, 190) También puede detectarse el virus circulante en sangre por una prueba de ELISA de captura.⁽¹⁹³⁾

2.8.4.3 Detección de ácidos nucleicos

El RNA del virus de la fiebre amarilla puede ser detectado en muestras de suero y de tejido hepático por una técnica de biología molecular, la RT-PCR y confirmada por hibridación en dot-blot usando sondas de DNA del virus de la fiebre amarilla. Este método es una alternativa a la del cultivo celular para una detección rápida, específica y sensible del virus de la fiebre amarilla en muestras biológicas.^(150, 190) Sin embargo, no se ha evaluado la sensibilidad y especificidad en comparación con las pruebas serológicas o el aislamiento viral. Los ácidos nucleicos también pueden ser detectados por hibridación *in situ* en tejidos fijados con formol y parafinados o en tejidos frescos.

2.9 PREVENCIÓN

La fiebre amarilla urbana puede ser prevenida por la erradicación del mosquito *Aedes aegypti* o por la disminución de su número a un punto que no pueda perpetuar la infección,⁽¹⁹⁴⁾ pero esto es difícil de sostener aún en sociedades altamente autoritarias como Singapur y Cuba. En zonas urbanas el mosquito puede ser controlado por eliminar los recipientes donde se acumula agua, por tapar los depósitos de almacenamiento de agua, por el uso de insecticidas y por aplicar larvicidas a los criaderos que permanezcan.⁽¹⁷⁶⁾ Mirar la sección de dengue.

Dengue y Fiebre amarilla

La fiebre amarilla selvática puede ser prevenida por la vacunación a las personas en riesgo de exposición.⁽¹⁹⁴⁾ La inmunización es la forma primaria para prevenir la fiebre amarilla y debe ser hecha en el sitio de origen de los colonos y de los trabajadores reclutados, antes de viajar a zonas tropicales. Se recomienda usar ropa protectora, mosquiteros y repelentes para prevenir infecciones con enfermedades selváticas transmitidas por vectores y especialmente en personas que no han sido inmunizadas contra el virus de la fiebre amarilla.⁽¹⁷⁶⁾

La vacunación en masa de la población de Africa en zonas endémicas, es el único medio de controlar la enfermedad en caso de epidemia. La cobertura poblacional requerida para prevenir la transmisión epidémica no se conoce, pero algunas autoridades han especulado que porcentajes del 80%, pueden ser suficientes.⁽¹⁹⁵⁾ Una manera de alcanzarlo es la inclusión de la vacuna de la fiebre amarilla en los programas de inmunización (EPI), que fue recomendado para todos los 34 países del sub Sahara africano por EPI/UNICEF, en 1988. Desafortunadamente, el cubrimiento ha sido bajo con muy pocas excepciones (Gambia y Burkina Faso). EPI recomienda administrar la vacuna de la fiebre amarilla junto con la del sarampión a los 9 meses de edad.⁽¹⁵²⁾

En un modelo de costo efectividad desarrollado, se encontró que esta inmunización rutinaria podría ser 7 veces más efectiva en términos de prevención de casos y muertes por fiebre amarilla, comparados con las campañas de vacunación en masa durante las epidemias masivas. Comparado a el costo del control de la emergencia producido por pequeñas epidemias, la inmunización fue menos costo efectiva.⁽¹⁵²⁾ Por lo anterior en otros países de Africa, han concluido que por la poca frecuencia de las epidemias de fiebre amarilla, no se justifica designar parte de los escasos recursos a este programa de prevención.⁽¹⁶⁰⁾ Pero esos estimativos de costo beneficio no han tomado en consideración la carga de enfermedad endémica, que esta pobremente caracterizada. La mayoría de casos de fiebre amarilla que ocurren entre las epidemias no son diagnosticados. Si estos fueran incluidos en el total de la carga de fiebre amarilla, la vacunación rutinaria podría aparecer como costo-efectiva.

2.9.1 Control

Durante la fase aguda de la enfermedad los pacientes deben ser protegidos de las picaduras de mosquitos, para evitar la diseminación de la infección,⁽¹⁰³⁾ aunque los picos de viremia ocurren alrededor del 2-3 día de la enfermedad y es inusual que un paciente ictérico todavía este virémico.

Para prevenir la transmisión internacional de la fiebre amarilla, las regulaciones internacionales exigen la inspección de barcos y aeronaves procedentes de países infectados con *Aedes aegypti* a su arribo a los puertos marítimos y aeropuertos nacionales, la inspección de zonas adyacentes a puertos y aeropuertos y el rociado periódico de insecticidas.⁽¹⁹⁶⁾ Muchos países exigen un certificado de vacunación de centros de vacunación oficiales para viajeros que llegan de áreas infectadas o de países infectados, el certificado es válido por 10 años.⁽¹⁷⁶⁾

2.9.2 Vacuna

La vacuna 17D de la fiebre amarilla es viva atenuada. Es segura y efectiva; es preparada en embriones de pollo, es sensible al calor y debe ser transportada y almacenada entre temperaturas de 5 °C hasta -70 °C; es preferible que este congelada a temperaturas bajo 0 °C hasta que sea reconstituida por la adición de diluentes aunque puede ser almacenada entre 4 a 8 grados centígrados hasta por un año.^(176, 194, 197)

Como la vacuna viene en presentación liofilizada es bastante estable y de acuerdo a las guías de la OMS, puede mantener más de 1000 dosis letales 50 por medio centímetro de dosis en ratones por 14 días a 37°C; pero una vez reconstituida con un diluyente estéril es muy inestable y debe ser mantenida a temperaturas de 2 a 10 °C. La vacuna no usada debe ser descartada en 1 hora después de la reconstitución.⁽¹⁹⁴⁾

La seroconversión es mayor del 95%, la duración de la inmunidad es como mínimo de 10 años, hay estudios que reportan la presencia de anticuerpos neutralizantes entre 30 y 35 años después de puesta la vacuna, por lo que la inmunidad probablemente dura toda la vida.⁽¹⁷⁵⁾ La respuesta serológica no es inhibida por su aplicación simultánea con diferentes vacunas: BCG, DPT, sarampión, poliomielitis,⁽¹⁹⁸⁾ hepatitis B,⁽¹⁹⁹⁾ hepatitis A, cólera oral y fiebre tifoidea oral o el antígeno capsular polisacárido Vi parenteral de fiebre tifoidea.^(176, 194, 197, 200) La respuesta inmune tampoco esta comprometida por el tratamiento simultáneo con cloroquina a dosis

Dengue y Fiebre amarilla

profilácticas o por la aplicación intramuscular de inmunoglobulina⁽²⁰¹⁾
(*Nivel de evidencia I, Recomendación grado A*)

La vacuna se recomienda para personas mayores de 9 meses de edad que viajan a zonas endémicas, como África y Sur América. 10 días es el tiempo requerido antes de que un certificado de inmunización internacional se vuelva válido antes de viajar, este intervalo es mínimo para que la inmunidad protectora pueda ser alcanzada. Por lo anterior, muchos viajeros van a zonas de fiebre amarilla sin una adecuada protección por que la vacuna es recibida muy tarde.^{(150) (194, 202)}

(*Nivel de evidencia III.3, Recomendación grado C*)

2.9.2.1 Dosis

Vacunación por primera vez: Una sola inyección subcutánea de 0.5 ml. de la vacuna reconstituida. Revacunación: Se requiere a intervalos de 10 años para aumentar los títulos de anticuerpos sin embargo varios estudios sugieren que la inmunidad persiste por un mínimo de 30 a 35 años y probablemente toda la vida.^(175, 194)

2.9.2.2 Reacciones

Son generalmente moderadas con fiebre baja, cefalea moderada o mialgias durante los primeros 10 días después de recibir la vacuna. Las reacciones de hipersensibilidad inmediata con brote, urticaria o asma ocurren en menos de uno en un millón de individuos y usualmente en personas alérgicas al huevo. Las reacciones adversas son muy raras, como la encefalitis que se ha reportado en aproximadamente 18 casos, principalmente en niños menores de 4 meses de edad, se recomienda no darla a menores de 6 meses.^(176, 194). En uno de esos casos de encefalitis fatal se comprobó la neurovirulencia por una mutación ocurrida en el virus vacunal.⁽²⁰³⁾
(*Nivel de evidencia III.1*). Aunque la infección secuencial por dengue se cree que es un factor muy importante en la patogénesis del dengue hemorrágico por un aumento en los anticuerpos; no hay evidencia que la vacunación para fiebre amarilla aumente el riesgo de dengue hemorrágico.

2.9.2.3 Precauciones y contraindicaciones

a) Edad: Niños menores de 4 meses de edad por el riesgo de encefalitis. Por razones prácticas se vacunan los niños a partir de los 9 meses junto con la vacuna del sarampión.

b) Embarazo: En un estudio se encontró una baja respuesta de

anticuerpos posiblemente por la inmunosupresión en la función de las células T y B que ocurre fisiológicamente en un embarazo normal.⁽²⁰⁴⁾ (Nivel de evidencia III.1)

Como la vacuna está compuesta por un virus vivo atenuado hay una posibilidad teórica de teratogenia. En un estudio, se hizo un seguimiento de 4 años de los niños nacidos de madres vacunadas en el embarazo y no se encontró ningún efecto anormal que pudiera ser atribuido a la vacuna, aunque solo el 4% de esas mujeres recibieron la vacuna en el primer trimestre del embarazo.⁽²⁰⁴⁾ Tsai reportó un caso de infección congénita asintomática después de inmunización en el primer trimestre de embarazo, a través de la detección de IgM en sangre del cordón umbilical.⁽²⁰⁵⁾ (Nivel III.1). Ambos estudios dan conclusiones limitadas porque no siguieron los abortos; un estudio reciente hecho en Brasil, da alguna evidencia que mujeres vacunadas durante los primeros meses del embarazo tienen un riesgo aumentado de aborto espontáneo.⁽²⁰⁶⁾ (Nivel de evidencia III.1). Por lo anterior y aunque no se conocen los efectos adversos de esa infección congénita, el neurotropismo del virus por el SN inmaduro es indicativo para evitar la inmunización durante el embarazo a menos que el riesgo de adquirir la fiebre amarilla sea mayor que el riesgo de aborto y enfermedad congénita.^(205, 206) (Nivel de evidencia III.1)

c) Trastornos inmunológicos de base como pacientes con SIDA, leucemia, linfoma, en tratamiento con esteroides, antimetabolitos, drogas alquilantes.

La respuesta inmune en pacientes adultos infectados con VIH, con un número de células CD4 > 200 fue solo del 77% y se encontró aun más bajo en niños con infecciones congénitas por VIH, 17%. No se siguieron específicamente los efectos adversos durante esos estudios pero no se detectaron efectos serios.⁽²⁰⁷⁾ Durante la campaña de vacunación en masa en Kenya, se hizo una vigilancia hospitalaria de complicaciones del SN y no se encontraron diferencias en los porcentajes para los pacientes infectados con VIH; pero como la vigilancia era hospitalaria para los trastornos del SN se pudieron pasar las muertes y los otros efectos adversos que ocurrían en los poblados. Una muerte que ocurrió durante el período de la vacunación, se reportó en un paciente con SIDA.

d) Hipersensibilidad: Por lo que es producida en embriones de pollo y no debe darse a personas alérgicas al huevo⁽¹⁹⁴⁾

2.10 DEFINICIONES DE CASO DE FIEBRE AMARILLA

2.10.1 Caso probable

Enfermedad clínicamente compatible con un soporte serológico (Títulos de anticuerpos elevados estables ejemplo: títulos de Fijación de complemento \geq a 32, de inmunofluorescencia \geq a 256, de IHA \geq a 320, de Neutralización \geq a 160 o un resultado serológico positivo de IgM por ELISA de captura. Las reacciones cruzadas con otros flavivirus deben ser excluidas y no debe haber historia de inmunización contra la fiebre amarilla).

2.10.2 Caso confirmado

Una enfermedad compatible que es confirmada por laboratorio con:

- Aumento de 4 veces o más del título de anticuerpos de fiebre amarilla, en un paciente sin historia de inmunización reciente contra la fiebre amarilla y sin reacciones cruzadas con otros flavivirus.
- Demostración del virus de la fiebre amarilla, el antígeno o el genoma en tejidos, sangre u otro líquido corporal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Valdespino, J.L., *Clásicos en Salud Pública*. Salud Pública de México, 1995. 37: p. S98.
2. Gubler, D.J., *Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC. p. 1-22.
3. Henchal, E.A. and J.R. Putnak, *The dengue viruses*. Clin Microbiol Rev, 1990. 3: p. 376-96.
4. Díaz, F.J., *Infecciones por arbovirus y rubéola*, in *Enfermedades infecciosas*. 1996, Corporación para Investigaciones Biológicas: Medellín. p. 688-95.
5. Sabin, A.B., *Research on dengue during World War II*. Am J Trop Med Hyg, 1952. 1: p. 30-50.
6. *Dengue, dengue hemorrágico/síndrome de choque del dengue (DH/SCD)*, in *Manual para el control de las enfermedades transmisibles*, A.S. Benenson and J. Chin, Editors. 1995, American Public Health Association: Washington DC. p. 68-73.
7. Epidemiología, *Fiebre dengue, in Protocolos de vigilancia epidemiológica 1996: guías integrales de atención*, M.L. Echeverri, et al., Editors. 1996, Dirección Departamental de Salud de Antioquia: Medellín. p. 170-7.
8. Centers for Disease Control and Prevention, *Case definitions for public health surveillance*. Morb Mort Wkly Rep, 1990. 39(RR-13): p. 10-1.
9. OPS, *Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control*, in *Publicación científica No 548*. 1995, Organización Panamericana de la Salud: Washington DC. p. 109
10. Rothman, A.L., *Viral pathogenesis of dengue infections*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC p. 245-271.
11. Halstead, S.B., *Dengue hemorrhagic fever: a public health problem and a field for research*. Bull World Hlth Organ, 1980. 58(1): p. 1-21.
12. Bhamarapravati, N., *Pathology of dengue infections*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional Washington DC. p. 115-133.
13. Chen, W.J., et al., *Silent transmission of the dengue virus in southern Taiwan*. Am J Trop Med Hyg, 1996. 55(1): p. 12-6.
14. Dietz, V.J., et al., *Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: evaluation of a clinically based dengue surveillance system*. Am J Epidemiol, 1990. 131(4): p. 693-701.
15. Rosen, L., *Disease exacerbation caused by sequential dengue infections: myth or reality*. Rev Infect Dis, 1989. 11(Suppl 4): p. S840-2.
16. Nelson, M.J., *Aedes aegypti: biología y ecología*, 1986, Organización Panamericana de la Salud: Washington DC. p. 8-11.
17. Kuno, G., *Review of the factors modulating dengue transmission*. Epidemiol Rev, 1995. 17(2): p. 321-35.

18. Kurane, I. and F. Ennis, *Immunopathogenesis of dengue virus infections*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC. p. 273-290.
19. Chang, G.-J., *Molecular biology of dengue viruses*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC. p. 175-198.
20. Kautner, I., M.J. Robinson, and U. Kubnle, *Dengue virus infection: Epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and prevention*. J Pediatr, 1997. 3(4): p. 516-24.
21. Rico-Hesse, R., *et al.*, *Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand*. Am J Trop Med Hyg, 1998. 58(1): p. 96-101.
22. Henchal, E.A., *et al.*, *Identification of an antigenic and genetic variant of dengue 4 virus from the Caribbean*. Am J Trop Med Hyg, 1986. 35(2): p. 393-400.
23. Westaway, E.G. and J. Blok, *Taxonomy and evolutionary relationships of flaviviruses*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC., p. 147-173.
24. Clark, G.G., *Situación epidemiológica del dengue en América. Desafíos para su vigilancia y control*. Salud Pública Mex, 1995. 37(Supl): p. 5-11.
25. Kuno, G., *Factors influencing the transmission of dengue viruses*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC. p. 61-88.
26. Gubler, D.J. and T.R. Suharyono W, Abidin SA., *Viraemia in patients with naturally acquired dengue infection*. Bull World Hlth Organ 1981; 59: 623-30. 1981.
27. Watts, D.M., *et al.*, *Effect of temperature on the vector efficiency of Aedes aegypti for dengue 2 virus*. Am J Trop Med Hyg, 1987. 36(1): p. 143-152.
28. Rodhain, F. and L. Rosen, *Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: Washington DC. p. 45-60.
29. Hull, B., *et al.*, *Natural transovarial transmission of dengue 4 virus in Aedes aegypti in Trinidad*. Am J Trop Med Hyg, 1984. 33(6): p. 1248-50.
30. Joshi, V., M. Singhi, and R.C. Chaudhary, *Transovarial transmission of dengue 3 virus by Aedes aegypti*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1996. 90(643-4).
31. Khin, M.M. and K.A. Than, *Transovarial transmission of dengue 2 virus by Aedes aegypti in nature*. Am J Trop Med Hyg, 1983. 32(3): p. 590-4.
32. Rosen, L., *et al.*, *Transovarial transmission of dengue viruses by the mosquitoes Aedes albopictus and Ae. aegypti*. Am J Trop Med Hyg, 1983. 32(5): p. 1108-19.
33. Moore, C.G. and C.J. Mitchell, *Aedes albopictus in the United States: ten year presence and public health implications*. Emerging Infect Dis, 1997. 3(3): p. 329-334.
34. Serufo, J.C., *et al.*, *Isolation of dengue virus type 1 from larvae of Aedes albopictus in Campos Altos city, State of Minas Gerais, Brasil*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1993. 88(3): p. 503-4.
35. Ministerio de Salu|d-INS, *Vigilancia epidemiológica para Aedes albopictus*. Inf Quinc

- Epidemiol Nacion, 1998. 3(7): p. 93-94.
36. Ibañez-Bernal, S. and H. Gómez-Dantes, *Los Vectores del Dengue en México: Una Revisión Crítica*. Salud Pública de México., 1995. vol 37: p. S53-63.
 37. Barrera, R., et al., *Deficiencia en servicios públicos y cría de Aedes aegypti en Venezuela*. Bol.Oficina Sanit Panam, 1995. 118(5): p. 410-22.
 38. Suárez, M.F. and M.J. Nelson, *Registro de altitud del Aedes aegypti en Colombia*. Biomedica, 1981. 1(4): p. 225.
 39. Herrero-Basto, E., et al., *First reported outbreak of classical dengue fever at 1,700 meters above sea level in Guerrero State, México, June 1988*. Am J Trop Med Hyg, 1992. 46(6): p. 649-653.
 40. Macoris, M.L., et al., *Factors favouring houseplant container infestation with Aedes aegypti larvae in Marília, Sao Paulo, Brazil*. Pan Am J Public Health, 1997. 1(4): p. 280-286.
 41. Reiter, P., et al., *Short report: dispersal of Aedes aegypti in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs*. Am J Trop Med Hyg, 1995. 52(2): p. 177-179.
 42. Ministerio de Salud-INS, *Distribución de Aedes aegypti en Colombia, 1997*. Inf Quinc Epidemiol Nacion, 1998. 3(7): p. 94-96.
 43. Morales, A., *Aedes aegypti en zona rural del municipio de la Mesa (Cundinamarca) Colombia, S.A*. Biomedica, 1981. 1(4): p. 223-4.
 44. Innis, B.L., *Antibody responses to dengue virus infections*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional Washington DC. p. 221-271.
 45. Halstead, S.B. and G. Papaevangelou, *Transmission of dengue 1 and 2 viruses in Greece in 1928*. Am J Trop Med Hyg, 1980. 29(4): p. 635-7.
 46. Halstead, S.B., *Etiologies of the experimental dengues of Siler and Simmons*. Am J Trop Med Hyg, 1974. 23(5): p. 974-82.
 47. Pinheiro, F.P. and S.J. Corber, *Global situation of dengue and dengue hemorrhagic fever, and its emergence in the Americas*. Wld Hlth Statist Quart, 1997. 50: p. 161-169.
 48. Halstead, S.B., *The XXth century dengue pandemic: need for surveillance and research*. World Health Stat Q, 1992. 45(2- 3): p. 292-8.
 49. Moreau, J., et al., *An epidemic of dengue on Tahiti associated with hemorrhagic manifestations*. Am J Trop Med Hyg, 1973. 22(2): p. 237-41.
 50. Gubler, D.J., et al., *Epidemiologic, clinical and virologic observations on dengue in the kingdom of Tonga*. Am J Trop Med Hyg, 1978. 27(3): p. 581-9.
 51. Kuberski, T., et al., *Clinical and laboratory observations on patients with primary and secondary dengue type 1 infections with hemorrhagic manifestations in Fiji*. Am J Trop Med Hyg, 1977. 26(4): p. 775-83.
 52. Barnes, W.J. and L. Rosen, *Fatal hemorrhagic disease and shock associated with primary dengue infection on a pacific island*. Am J Trop Med Hyg 1974; 23(3): 495-506. 1974.
 53. Gubler, D.J. and G.G. Clark, *Dengue / dengue hemorrhagic fever: the emergence of a*

- global health problem. Emerging Infectious Diseases, 1995. 1(2): p. 55-57.*
54. Rodier, G.R., et al., *Epidemic dengue 2 in the city of Djibouti 1991-1992*. *Trans R Soc Trop Med Hyg, 1996. 90: p. 237-240.*
 55. Gubler, D.J., et al., *Dengue 3 virus transmission in Africa*. *Am J Trop Med Hyg, 1986. 35(6): p. 1280-1284.*
 56. Guzmán, M.G., et al., *Dengue en Nicaragua, 1994: reintroducción del serotipo 3 en las Américas*. *Bol Of Sanit Panam, 1996. 121(2): p. 102-48.*
 57. Morens, D.M., et al., *Dengue Outbreak Investigation Group. Dengue in Puerto Rico, 1977: public health response to characterize and control an epidemic of multiple serotypes*. *Am J Trop Med Hyg, 1986. 35(1): p. 197-211.*
 58. Kourí, G., et al., *Reemergence of dengue in Cuba: a 1997 epidemic in Santiago de Cuba*. *Emerging Infect Dis, 1998. 4(1): p. 89-92.*
 59. Monath, T.P., *Dengue: the risk to developed and developing countries*. *Proc Natl Acad Sci USA, 1994. 91: p. 2395-4000.*
 60. *Dengue y fiebre hemorrágica del dengue, 1996*. *Bol Epidemiol OPS, 1996. 17: p. 12-14.*
 61. Ministerio de Salud-INS, *Escenario epidemiológico actual del dengue en Colombia*. *Inf Quinc Epidemiol Nac, 1996. 1(2): p. 14-7.*
 62. Boshell, J., et al., *Dengue en Colombia*. *Biomedica, 1986. 6(3 y 4): p. 101-6.*
 63. López, Y.L., *El dengue como problema de salud pública en Colombia*. *Bol Epidemiol Antioquia, 1996. 21(2): p. 186-99.*
 64. Alcalá, A.E., *Seroprevalencia de dengue y factores de riesgo asociados: casco urbano municipio de Riohacha, Guajira, Colombia 1995*. *Bol Epidemiol Antioquia, 1996. 21(3): p. 280-6.*
 65. Ministerio de Salud-INS, *Dengue y dengue hemorrágico en Girardot, Cundinamarca, diciembre de 1995-enero de 1996*. *Inf Quinc Epidemiol Nac, 1996. 1(2): p. 20-2.*
 66. De La Hoz, F., et al., *Dengue hemorrágico en Colombia: aspectos clínicos, enero-junio 1990*. *Biomedica, 1989. 9(3 y 4): p. 93-8.*
 67. Saad, C., et al., *Vigilancia intensificada sobre el dengue y los primeros casos de dengue hemorrágico confirmados en Colombia durante el primer semestre de 1990*. *Biomedica, 1989. 6(3 y 4): p. 99-104.*
 68. Ministerio de Salud-INS, *Dengue en Villavicencio, 1995-1996*. *Inf Quinc Epidemiol Nac, 1996. 1(2): p. 17-9.*
 69. *Evidencia del impacto del fenómeno del Niño en la ocurrencia del dengue hemorrágico en Colombia durante 1997-1998*, Oficina de Epidemiología - Ministerio de Salud: Bogotá.
 70. Ministerio de Salud-INS, *Sistema Alerta Acción: semanas epidemiológicas 52 y 53 (del 21 de diciembre al 3 de enero) 1997-1998*. *Inf Quinc Epidemiol Nacion, 1998. 3(1): p. 14.*
 71. Gubler, D.J. and G.G. Clark, *Community based integrated control of Aedes aegypti: a brief overview of current programs*. *Am J Trop Med Hyg, 1994. 50(6 Supp): p. 50-60.*
 72. Campos, C., E. Gil, and M.G. Guzmán, *Informe de misión a Colombia: evaluación*

- programa control del dengue y dengue hemorrágico (Colombia, 17-21/10/1995), . 1995, Organización Panamericana de Salud: Washington DC.
73. Ministerio de Salud-INS, *Vigilancia entomológica para Aedes albopictus*. Inf Quinc Epidemiol Nacion, 1997. 2(7): p. 93-4.
 74. Horton, R., *The infected metropolis (Commentary)*. Lancet, 1996. 347(i): p. 134-135.
 75. Narro-Robles, J. and H. Gómez-Dantés, *El dengue en México: un problema prioritario de salud pública*. Salud Pública Méx, 1995. 37(Suppl): p. 12-20.
 76. Rosen, L., *The emperor's new clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever*. Am J Trop Med Hyg, 1977. 26(3): p. 337-43.
 77. Sangkawibha, N., *et al.*, *Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand - I: the 1980 outbreak*. Am J Epidemiol, 1984. 120: p. 653-69.
 78. Thein, S., *et al.*, *Risk factors in dengue shock syndrome*. Am J Trop Med Hyg, 1997. 56(5): p. 566-72.
 79. Burke, D.S., *et al.*, *A prospective study of dengue infections in Bangkok*. Am J Trop Med Hyg, 1988. 38(1): p. 172-80.
 80. Bravo, J.R., M.G. Guzmán, and G.P. Kouri, *Why dengue haemorrhagic fever in Cuba ? I: individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS)*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1987. 81(816-20).
 81. Kourí, G.P., M.G. Guzmán, and J.R. Bravo, *Why dengue haemorrhagic fever in Cuba ? II: an integral analysis*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1987. 81: p. 821-3.
 82. Kliks, S.C., *et al.*, *Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants*. Am J Trop Med Hyg, 1988. 38(2): p. 411-19.
 83. Halstead, S.B., *Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB Internacional: New York. p. 23-44.
 84. Rico-Hesse, R., *Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature*. Virol, 1990. 174: p. 479-93.
 85. Halstead, S.B., *The pathogenesis of dengue: molecular epidemiology in infectious disease*. Am J Epidemiol, 1981. 114(5): p. 632-48.
 86. Guzmán, M.G., *et al.*, *Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study*. Am J Trop Med Hyg, 1990. 42(2): p. 179-184.
 87. Thisyakorn, U. and S. Nimmannitya, *Nutritional status of children with dengue hemorrhagic fever*. Clin Infect Dis, 1993. 16(2): p. 295-297.
 88. Halstead, S.B. and E.J. O'Rourke, *Dengue viruses and mononuclear phagocytes - I: infection enhancement by non-neutralizing antibody*. J Exp Med, 1977. 146: p. 201-17.
 89. Sumarmo, *et al.*, *Clinical observations on virologically confirmed fatal dengue infections in Jakarta, Indonesia*. Bull World Hlth Organ, 1983. 61(4): p. 693-701.
 90. Morens, D.M., *Antibody-dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease*. Clin Infect Dis, 1994. 19: p. 500-12.
 91. *Pathogenetic mechanisms in dengue haemorrhagic fever: report of an international*

- collaborative study*. Bull World Hlth Organ, 1973. 48(1): p. 117-133.
92. Kliks, S.C., *et al.*, *Antibody-dependent enhancement of dengue virus growth in human monocytes as a risk factor for dengue hemorrhagic fever*. Am J Trop Med Hyg, 1989. 40(4): p. 444-51.
 93. Halstead, S.B., *In Vivo enhancement of dengue virus infection in rhesus monkeys by passively transferred antibody*. J Infect Dis 1979; 140(4): 527-33. 1979.
 94. Gentry, M.K., *et al.*, *Identification of distinct antigenic determinants on dengue 2 virus using monoclonal antibodies*. Am J Trop Med Hyg, 1982. 31(3): p. 548-55.
 95. Bethell, D.B., *et al.*, *Pathophysiologic and prognostic role of cytokines in dengue hemorrhagic fever*. J Infect Dis, 1998. 177(March): p. 778-782.
 96. Bielefeldt-Oman, H., *Pathogenesis of dengue virus disease: missing pieces in the jigsaw*. Trends Microbiol, 1997. 5(10): p. 409-413.
 97. Lyngkaran, M., *et al.*, *Augmented tumour necrosis factor in Reye's syndrome associated with dengue virus (letter)*. Lancet, 1992. 340: p. 1466-7.
 98. Kuranc, I., *et al.*, *High levels of interferon alpha in the sera of children with dengue virus infections*. Am J Trop Med Hyg, 1993. 48(2): p. 222-229.
 99. Shaio, M.-F., F.-Y. Chang, and S.-C. Hou, *Complement pathway activity in serum from patients with classical dengue fever*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1992. 86: p. 672-675.
 100. George, R. and L. Lum, *Clinical spectrum of dengue infection*, in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, K. Gubler D J, G, Editor. 1997, CAB International: New York. p. 89-113.
 101. Kakayanarooj, S., *et al.*, *Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue illness*. J. Infect. Dis, 1997. 176: p. 313+21.
 102. Monath, T.P., *Early indicators in acute dengue infection*. JAMA, 1997: p. 1719-20.
 103. Monath, T., *Flaviviruses (yellow fever, dengue, dengue haemorrhagic fever, Japanese encephalitis, St. Louis encephalitis, tick-borne encephalitis)*, in *Principles and practice of infectious diseases*, B.J. Mandell GL, Dolin, R, Editor. 1995, Churchill Livingstone: New York. p. 1465-74.
 104. OMS, *Dengue Hemorrhagico: diagnóstico, tratamiento y lucha*, ed. O.M.S. Salud. 1987, Ginebra.
 105. Lum, L.C., *et al.*, *Dengue encephalitis: a true entity?* Am J Trop Med Hyg, 1996. 54: p. 256-59.
 106. Row, D., P. Weinstein, and S. Murray, *Dengue fever with encephalopathy in Australia*. Am J Trop Med Hyg, 1996. 54: p. 253-55.
 107. Patey, O., *et al.*, *Unusual neurologic manifestations occurring during dengue fever infections*. Am J Trop Med Hyg, 1993. 48: p. 793-802.
 108. Cobra, C., *et al.*, *Symptoms of dengue fever in relation to host immunologic response and virus serotype, Puerto Rico, 1990-1991*. Am J Epidemiol, 1995. 142(11): p. 1204-11.
 109. Ramos, C., E. Garcia, and J.M. Villaseca, *Fiebre hemorrágica y síndrome del choque por dengue*. Salud Pública de México, 1992. 35: p. 39-55.
 110. Kourí, G.P., *et al.*, *Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from*

- the Cuban epidemic, 1981.* Bull World Hlth Organ, 1989. 67(4): p. 365-380.
111. Rigau-Pérez, J. and Puerto Rico Association of epidemiologists, *Clinical Manifestations of dengue hemorrhagic fever in Puerto Rico, 1990-1991.* Pan Am J Public Health, 1997. 15: p. 381-88.
 112. Chan, Y.C., et al., *Dengue haemorrhagic fever outbreak in Karachi, Pakistan.* Trans Royal Soc Trop Med Hyg, 1995. 89: p. 619-20.
 113. Zagne, S.M., et al., *Dengue haemorrhagic fever in the state of Rio de Janeiro, Brazil: A study of 56 confirmed cases.* Trans Roy Soc Trop Med Hyg, 1994. 88: p. 677-79.
 114. Reynes, J.M., et al., *The first epidemic of dengue hemorrhagic fever in French Guiana.* Am J Trop Med Hyg, 1994. 51(5): p. 545-53.
 115. Fagbami, A.H., et al., *Dengue type 1 epidemic with haemorrhagic manifestations in Fiji.* WHO Bulletin OMS, 1995. 73: p. 291-97.
 116. Dietz, V., et al., *The 1986 dengue and dengue haemorrhagic fever in Puerto Rico, 1990-1991.* Puerto Rico Health Sciences Journal, 1996. 15: p. 201-210.
 117. Setiawan, M.W., et al., *Dengue haemorrhagic fever: ultrasound as an aid to predict the severity of the disease.* Pediatr Radiol, 1998. 28: p. 1-4.
 118. Martínez-Torres, E., *Dengue hemorrágico: Aspectos clínicos.* Salud Pública de México, 1995. 37: p. S29-43.
 119. Nimmannitya, S., *Dengue and dengue hemorrhagic fever: Diagnosis and management,* in *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, D.J. Gubler and D.G. Kuno, Editors. 1997, CAB International press: Washington DC. p. 133-147.
 120. Tassniyom, S., et al., *failure or high-dose methylprednisolone in established dengue shock syndrome: a placebo-controlled, doble-blind study.* Pediatrics, 1993. 92: p. 111-15.
 121. Tassniyom, S., et al., *Failure of carbazochrosodioum sulfonate (AC17) to prevent dengue vascular permeability or shock: a randomized, controlled trial.* J Pediatrics, 1997. 131: p. 525-28.
 122. Zavala-Velásquez, J., *Unrecognized spotted fever group rickettsiosis masquerading as dengue fever in Mexico.* Am J Trop Med Hyg, 1996. 55: p. 157-159.
 123. Gubler DJ, *Dengue and Dengue hemorrhagic Fever.* Clinical Microbiology Reviews, 1998. 11(3): p. 480-496.
 124. Chungue, E., et al., *Dengue I epidemic in french Polynesia, 1988-1989: Surveillance and clinical, epidemiological, virological and serological findings in 1752 documented clinical cases.* Trans R Soc Trop Med Hyg, 1992. 86: p. 193-197.
 125. Vorndam, V. and G. Kuno, *Laboratory diagnosis of dengue virus infections,* in *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*, D.J. Gubler and G. Kuno, Editors. 1997, CAB International: Washington DC. p. 313-33.
 126. Zarate-Aquino, M., A. Del Río-Zolezzi, and H. Gómez-Dantés, *El diagnóstico del dengue en Mexico: Actualidad y Perspectivas.* Salud Pública de México, 1995. 37: p. S21-28.
 127. Kuno, *An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infections.* Journal of Virological Methods, 1991. 33: p. 101-113.

128. Innis, L., et al., *An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis cocirculate*. Am J Trop med Hyg, 1989. 40(4): p. 418-27.
129. Jirakanjanakit, N., et al., *The Micro-focus reduction neutralization test for determining dengue and Japanese encephalitis neutralizing antibodies in volunteers vaccinated against dengue*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg, 1997. 91: p. 614-17.
130. Figueiredo, L.T. and C.R. Owa MA, dal Fabbro AL, de Mello NV, Capuano DM, Santili MB., *Encuesta serológica sobre el dengue en Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil*. Bol Of Panam 1995; 118(6): 499-509. 1995.
131. Vaughn, D.W., et al., *Evaluation of a rapid immunochromatographic test for diagnosis of dengue virus infection*. Clinic Microbiol J, 1998. 36: p. 23438.
132. Sang CT, et al., *Clinical evaluation of rapid immunochromatographic test for diagnosis of dengue virus infection*. Clinical and diagnostic laboratory immunology, 1998. 5(3): p. 407-409.
133. Vaughn, D.W., et al., *Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses*. Infect Dis J, 1997. 176: p. 322-330.
134. Sudiro, T.M., et al., *Rapid diagnosis of dengue viremia by reverse transcriptase polymerase chain reaction using 3'-noncoding region universal primers*. Am. J. Trop. Med. Hyg, 1997. 54: p. 424-29.
135. Lanciotti, R.S., et al., *Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase polymerase chain reaction*. J Clin Microbiol, 1992. 30: p. 545-51.
136. Chan, S.Y., I.M. Kautner, and L.S. K, *The influence of antibody levels in dengue diagnosis by polymerase chain reaction*. Journal of Virological Methods, 1994. 49: p. 315-321.
137. Gubler, D.J. and G.E. Sather. *Laboratory diagnosis of dengue and dengue hemorrhagic fever*. in *Simposio internacional sobre febre amarela e dengue cinquentenario da introdução da cepa 17D no Brasil*. 1988. Rio de Janeiro.
138. Anónimo, *Prevención y control del dengue clásico y hemorrágico en Centroamérica*. Bol Ofic Sanit Panam, 1996. 12(4): p. 368-72.
139. *Dengue, Dengue hemorrágico, Síndrome del choque de dengue*, in *Manual para el control de las enfermedades transmisibles*, A.S. Benenson, Editor. 1997, Organización Panamericana de la Salud: Washington, DC. p. 68-73.
140. Ko, Y.C., M.J. Chen, and S.M.T. Yeh, *The predisposing and Protective Factors against Dengue Virus*. Transmission by Mosquito Vector. American Journal of Epidemiology, 1992. vol.136(214-20).
141. Lloyd, L.S., et al., *Results of a community based aedes aegypti control program in Mérida, Yucatan, México*. Am. J. Trop. Med. Hyg, 1992. 46(6): p. 635-642.
142. Leontsini, E., et al., *Effect of a community based Aedes aegypti control programme on mosquito larval production sites in El Progreso, Honduras*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1993. 87(3): p. 267-71.
143. Lloyd, L., et al., *The design of a community-based health education intervention for*

- the control of Aedes aegypti*. Am. J. Trop. Med. Hyg, 1994. 50(4): p. 401-11.
144. Tun-Lin, W. and A. Barnes, *Understanding productivity, a key to Aedes aegypti surveillance*. Am. J. Trop Med Hyg, 1995. 53(6): p. 595-601.
 145. Focks, D.A. and D. Chadee, *Pupal Survey: An epidemiologically significant surveillance method for Aedes aegypti: An example using data from Trinidad*. Am. J Trop Med Hyg, 1997. 56(2): p. 159-67.
 146. Rosenbaum, J., et al., *Community Participation in Dengue Prevention and Control: A Survey Of Knowledge, Attitudes, and Practice in Trinidad and Tobago*. Am. J. Trop. Med. Hyg, 1995. 53(2): p. 111-117.
 147. Olson, K.E., et al., *Genetically engineered resistance to dengue 2 virus transmission in mosquitoes*. Science, 1996. 272: p. 884-86.
 148. Dharakul, T., et al., *Dengue virus specific memory T cell responses in human volunteers receiving live attenuated dengue virus type 2 candidate vaccine*. Infect Dis J, 1994. 170: p. 27-33.
 149. del Río-Rodríguez, C. and C. del Río-Chiriboga, *Clásicos en Salud Pública*. Salud Pública de México, 1995. 37: p. 256-63.
 150. McFarland, J., et al., *Imported Yellow Fever in a United States citizen*. Clinical Infectious Diseases, 1997. 25: p. 1143-7.
 151. Marchevsky, R.S., et al., *Phenotypic analysis of yellow fever virus derived from complementary DNA*. Am J Trop Med Hyg, 1995. 52(1): p. 75-80.
 152. Monath, T.P. and A. Nasidi, *Should yellow fever vaccine be included in the expanded program of immunization in Africa? A cost-effectiveness analysis for Nigeria*. Am J Trop Med Hyg, 1993. 48(2): p. 274-299.
 153. *Present status of yellow fever: memorandum from a PAHO meeting*. Bull World Hlth Organ, 1986. 64(6): p. 511-24.
 154. *Fiebris hemorrágicas víricas*, 1985, Organización Mundial de la Salud: Ginebra.
 155. Monath, T.P., *Yellow fever: victor, victoria? Conqueror, conquest? Epidemics and research in the last forty years and prospects for the future*. Am J Trop Med Hyg, 1991. 45(1): p. 1-43.
 156. Brès, P.L., *A century of progress in combating yellow fever*. Bull World Hlth Organ, 1986. 64(6): p. 775-86.
 157. Galler, R., et al., *The yellow fever 17D vaccine virus: molecular basis of viral attenuation and its use as an expression vector*. Braz J Med Biol Res, 1997. 30(2): p. 157-68.
 158. Deubel, V., et al., *Homogeneity among Senegalese strains of yellow fever virus*. Am J trop Med Hyg, 1985. 34(5): p. 976-983.
 159. Ruíz, I.C. *Alerta dengue hemorrágico - fiebre amarilla urbana*. in *Seminario taller nacional dengue: manejo clínico, epidemiológico y del vector*. 1989. Medellín.
 160. Dunster, L.M., et al., *Yellow fever in Kenya: the need for a country-wide surveillance programme*. Rapp Trim Statist Sanit Mond, 1997. 50: p. 178-184.
 161. Fontenille, D., et al., *First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in Aedes aegypti, its epidemic vector*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1997. 91: p. 533-535.

162. Aitken, T.H., et al., *Transovarial transmission of yellow fever virus by mosquitoes (Aedes aegypti)*. Am J Trop Med Hyg, 1979. 28(1): p. 119-121.
163. Rodríguez, A.M., et al., *Fiebre amarilla en Colombia*. Bol Epidemiol Nación, 1996. 1(7): p. 1-3 y 6-7.
164. De Cock, K.M., et al., *Epidemic yellow fever in eastern Nigeria, 1986*. Lancet, 1988(March 19): p. 630-32.
165. Vasconcelos, P.F., et al., *An epidemic of sylvatic yellow fever in the south east region of Maranhao state, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings*. Am J Trop Med Hyg, 1997. 57(2): p. 132-137.
166. Baudon, D., et al., *L'épidémie de fièvre jaune au Burkina Faso en 1983*. Bull Organ Mond Santé, 1986. 64(6): p. 873-882.
167. Centers for Disease Control, *Summary of a symposium on yellow fever*. J Infect Dis, 1981. 144(1): p. 87-91.
168. Morales, A., et al., *Búsqueda de mosquitos de género Haemagogus en el departamento de La Guajira, Colombia, Sur América*. Biomedica, 1984. 4(1): p. 25-36.
169. Horsfall, W.R., *Genus Haemagogus Williston*, in *Mosquitoes. Their bionomics and relation to disease*. 1955, Hafner publishing company: New York. p. 533-538.
170. Ministerio de Salud-INS, *Hallazgo de Haemagogus equinus (Theobald, 1903) en el área metropolitana de Bucaramanga*. Inf Quinc Epidemiol Nacion, 1997. 2(5): p. 64-5.
171. Horsfall, W.R., *Genus Sabethes R.-D.*, in *Mosquitoes. Their bionomics and relation to disease*. 1955, Hafner publishing company: New York. p. 323-324.
172. Kumm, H.W., E. Osorna-Mesa, and J. Boshell-Manrique, *Studies on mosquitoes of the genus Haemagogus in Colombia (Diptera, Culicidae)*. Am J Hyg, 1946. 43(1): p. 13-28.
173. Barros, M.L. and G. Boecken, *Jungle yellow fever in the central Amazon (letter)*. Lancet, 1996. 348(October 5).
174. *Fiebre amarilla*, in *Manual para el control de las enfermedades transmisibles*, A.S. Benenson and J. Chin, Editors. 1995, American Public Health Association: Washington DC. p. 188-192.
175. Poland, J.D., et al., *Persistence of neutralizing antibody 30 - 35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine*. Bull World Hlth Organ, 1981. 59(6): p. 895-900.
176. Robertson, S.E., et al., *Yellow fever. A decade of reemergence*. J Am Med Assoc, 1996. 276(14): p. 1157-1162.
177. Groot, H., *The reinvasion of Colombia by Aedes Aegypti: aspects to remember*. Am J Trop Med Hyg, 1980. 29: p. 330-8.
178. Corredor, A. *Enfermedades infecciosas: situación actual y tendencias*. in *Situación de la Salud en Colombia - Primer Curso*. 1995. Santafé de Bogotá D.C.: Instituto de Salud en el Tropic, Instituto Nacional de Salud, Organización Panamericana de la Salud.
179. Groot, H., et al., *Estudios de arbovirosis en Colombia en la década de 1970*. Biomédica, 1996. 16(331-44).
180. *La salud en Colombia, 10 años de información (1983-1992)*. 1994, Santafé de Bogotá: Dirección de Sistema de Información, Ministerio de Salud, República de Colombia. SS85-87.

181. Ministerio de Salud-INS, *Sistema Alerta Acción: semanas epidemiológicas 51 y 52 (15 a 28 de diciembre) y acumulado 1996*. Inf Quinc Epidemiol Nación, 1997. 2(1): p. 15.
182. Monath, T.P., *Arboviruses of Central and South America. Arboviral infections causing hemorrhagic fevers. Yellow fever*, in *Textbook of pediatric infectious disease*, R.D. Feigin and J.D. Cherry, Editors. 1992, W.B. Saunders company. p. 1432.
183. Ministerio de Salud-INS, *Informe sobre la evaluación de coberturas de vacunación contra fiebre amarilla en Barrancabermeja, Santander, octubre de 1997*. Inf Quinc Epidemiol Nacion, 1997. 2(20): p. 291-5.
184. Ministerio de Salud-INS, *Evaluación de las coberturas de vacunación contra fiebre amarilla en Villavicencio y Granada, Meta, agosto de 1997*. Inf Quinc Epidemiol Nacion, 1997. 2(16): p. 230-4.
185. deBrito T et al, *Human Fatal Yellow Fever-immunohistochemical detection of viral antigens in the liver, kidney and heart*. Pathol Res Pract, 1992. 188: p. 117-.
186. Okello, G.B.A., et al., *Outbreak of yellow fever in Kenya*. Lancet, 1993. 341: p. 489.
187. Espinel, C.H., *A piece of my mind. On the trail of color*. JAMA, 1996. 275: p. 168.
188. Handin, R.I., *Disorders of coagulation and trombosis*, in *Principles of Internal Medicine.*, B.E. Fauci AS, Isselbacher KJ. Eds. Harrisons, Editor. 1998, McGraw-Hill: New York. p. 738-741.
189. Susla, G.M., H. Masur, and C.R. E, *The hand book of Critical Care therapy.*, ed. 1998, Baltimore: Williams & Wilkins. 89.
190. Deubel, V., et al., *Molecular detection and characterization of yellow fever virus in blood and liver specimens of a non vaccinated fatal human case*. Journal of Medical Virology, 1997. 53: p. 212-17.
191. Nolla-Sallas, J., J. Saballs-Radresa, and J.L. Bada, *Imported Yellow Fever in vaccinated tourist*. Lancet, 1989(November 25): p. 1275.
192. Lhuillier M et al, *Emergences endémiques multiples de la fièvre jaune en Cote d'Ivoire: place de la détection des IgM antiyamiles dans la strtégie de surveillance*. Bulletin of the World Health Organizartion, 1984. 64: p. 415-420.
193. Monath TP and Nystrom RR, *Detection of yellow fever virus in serum by enzyme immunoassay*. American Journal of Tropical Medicine and hygiene, 1984. 33: p. 151-157.
194. *Yellow Fever Vaccine: Recommendations of the immunization practices advisory committe (ACIP)*. MMWR, 1990. 39(RR-6).
195. Bres P, *Benefit versus risk factors in immunization against yellow fever*. Devel Biol Stand, 1979. 43: p. 297-304.
196. Torres Muñoz, A., *La fiebre Amarilla en México. Erradicación del Aedes aegypti*. Salud Pública de México, 1995. 37: p. S103-S110.
197. Rumbea-Guzmán, J. and M.A. Kron, *Treat of dengue haemorrhagic fever after yellow fever vaccination*. Lancet, 1997. 349: p. 1841.
198. Ruben FL, Smith EA, and Foster SO et al, *Simultaneous administration of smallpox, measles, yellow fever, and diphteria-pertussis-tetanus antigens to nigerian children*. . Bull World Health Organization, 1973. 48: p. 175-181.

199. Yvonnet B, *et al.*, *Simultaneous administration of hepatitis B and yellow fever vaccines*. J. Med Virol., 1985. 19: p. 307-311.
200. Ambrosch F, Fritzell B, and Gregor J, *.Combined vaccination against yellow fever and typhoid fever: a comparative trial*. Vaccine, 1994. 12: p. 625-628.
201. Kollaritsch, H., *et al.*, *Safety and immunogenicity of live oral Cholera and Typhoid Vaccines administered alone or in combination with antimalarial drugs, oral polio vaccine, or yellow fever vaccine*. Journal Infectious Disease, 1997. 175: p. 871-5.
202. Waclawski, E.R. and E. Walker, *Yellow fever and the Traveler*. Lancet, 1987(January 10): p. 100.
203. Jennings, A.D., *et al.*, *Analysis of a yellow fever virus isolated from a fatal case of vaccine-associated human encephalitis*. Journal of Infectious Diseases, 1993. 169: p. 512-8.
204. Nasidi, A., *et al.*, *Yellow fever vaccination and pregnancy: a four year prospective study*. Trans. Roy. Soc. Med. Hyg, 1993. 87: p. 337-39.
205. Tsai, T.F., *et al.*, *Congenital yellow fever virus infection after immunization in pregnancy*. Journal Infectious Diseases, 1993. 168: p. 1520-23.
206. Nisshioka, S.A., *et al.*, *Yellow fever vaccination during pregnancy and spontaneous abortion: A case-control study*. Tropical Medicine and International Health, 1998. 3(1): p. 2933.
207. Sibailly TS, *et al.*, *Poor antibody response to yellow fever vaccination in children infected with human immunodeficiency virus type I*. The Pediatric Infection Disease Journal, 1997. 16(12): p. 1177-1179.