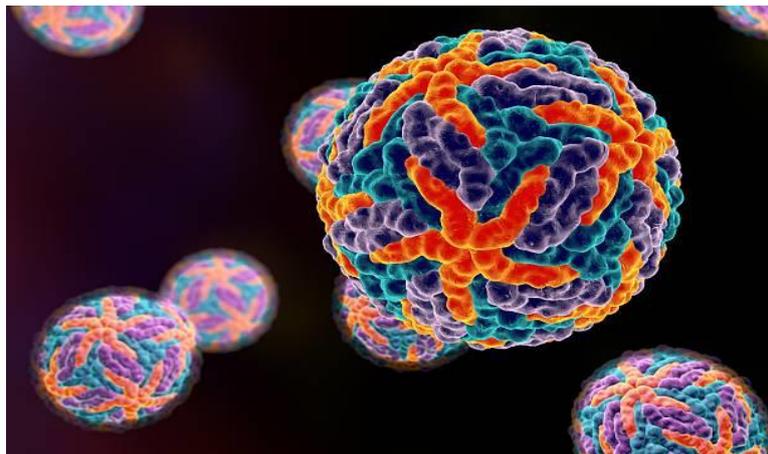


UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA



PRIMEROS CASOS DEL VIRUS DEL  
DENGUE EN ESPAÑA



Autor: Gabriel Naranjo Ordóñez



*UNIVERSIDAD DE SEVILLA*

*Facultad de Farmacia*

*Grado en Farmacia*

TRABAJO FIN DE GRADO

**Título del trabajo:**

**“Primeros casos del virus del dengue en España”**

Autor: Gabriel Naranjo Ordóñez

Lugar y fecha de presentación: Sevilla, septiembre 2019

Departamento: Microbiología y Parasitología

Tutora: M<sup>a</sup> Carmen Márquez Marcos

Tipología del trabajo: Bibliográfico

## **RESUMEN**

**Introducción:** la enfermedad del dengue es una enfermedad grave, que en determinadas situaciones puede llegar a ser mortal, originada por el virus del dengue y transmitida al ser humano por mosquitos pertenecientes al género *Aedes*. Desde la primera epidemia documentada en 1779, el virus ha producido numerosos brotes esporádicos y grandes epidemias en el continente africano, asiático y americano, alcanzando en la actualidad lugares hasta ahora desconocidos para la enfermedad, como numerosos países del continente europeo, entre ellos España. El **objetivo** del trabajo ha sido revisar el estado actual del virus del dengue, la enfermedad que produce en el ser humano y los recientes casos diagnosticados en España.

**Metodología:** las bases de datos utilizadas han sido *PubMed* y *MedlinePlus*, así como diversas guías y páginas webs relacionadas con la enfermedad. **Resultados:** existen cinco serotipos del virus que se encuentran distribuidos ampliamente por los cinco continentes, siendo el 2 y el 3 los causantes del dengue grave. En España los casos producidos recientemente se asocian al serotipo 1. Hasta ahora no existe un diagnóstico diferencial que permita detectar la enfermedad en los primeros días de su desarrollo, tampoco existe un tratamiento antiviral específico, aunque actualmente se están realizando ensayos clínicos en diversas moléculas químicas. Solo existe una vacuna con licencia para su comercialización, aunque solamente se puede utilizar en determinados pacientes y rangos de edad. En un futuro próximo existirán más vacunas comercializadas, ya que algunas se encuentran en fases preclínicas avanzadas. **Conclusiones:** la gran extensión que ha experimentado el virus en las últimas décadas ha sido debida a la amplia distribución que han sufrido los vectores responsables de su transmisión, adaptándose a climas templados con enorme facilidad. A pesar de los enormes avances realizados recientemente, es necesario seguir investigando para obtener nuevos conocimientos sobre el virus y así poder actuar de forma más efectiva. Para ello, es esencial la participación y comunicación de todas las partes implicadas.

## **PALABRAS CLAVES**

Dengue, *Flavivirus*, epidemiología, tratamiento, vacunas.

## **ÍNDICE**

INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	1
METODOLOGÍA.....	2
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	3
1. Historia del virus del dengue .....	3
2. Características del virus del dengue.....	4
2.1 Estructura.....	4
2.2 Genoma .....	4
2.3 Variantes genómicas.....	6
2.4 Replicación .....	7
2.5 Patogénesis y respuesta inmune.....	8
3. Clasificación del dengue según la OMS .....	10
4. Epidemiología .....	11
5. Vectores y proceso de transmisión .....	14
5.1 Otros ciclos de transmisión.....	17
6. Factores ecológicos, ambientales y sociodemográficos.....	17
7. Manifestaciones clínicas.....	18
8. Diagnóstico .....	21
9. Tratamiento .....	25
10. Profilaxis .....	29
11. Perspectivas futuras .....	31
CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFÍA .....	33



## **INTRODUCCIÓN**

El dengue es una enfermedad vírica que se transmite por artrópodos (mosquitos) cuya incidencia ha aumentado en el último lustro, propagándose desde las zonas rurales a las urbanas y extendiéndose a nuevos países, debido en gran medida a la elevada expansión geográfica y a la globalización (TDR and OMS, 2009). Se ha convertido en una enfermedad muy importante a nivel mundial, ya que antes de 1970 solo nueve países habían sufrido epidemias por dengue grave y actualmente es endémica en más de cien países del continente africano, asiático y americano, así como en regiones del Mediterráneo oriental y Pacífico occidental (OMS, 2019). Esta enfermedad estuvo presente en Europa hasta el siglo pasado y concretamente en España desde 1778 hasta su desaparición en 1927. Actualmente, se han diagnosticado nuevos casos importados de dengue en España debido, en gran medida, al aumento del comercio internacional de neumáticos usados y a la llegada de inmigrantes portadores de la enfermedad (Aranda et al., 2018). Los primeros casos de dengue autóctono en España fueron diagnosticados en octubre de 2018 y, posteriormente, en noviembre de ese mismo año en las regiones de Murcia y Cataluña, respectivamente (MSCBS, 2018).

## **OBJETIVOS**

Tras un periodo de tiempo en el que se eliminó el dengue en España, volvieron a aparecer nuevos casos de esta enfermedad viral. Los primeros que surgieron se trataban de dengue importado por huéspedes portadores que llegaban a nuestro país procedentes de otros países donde esta enfermedad es endémica. En 2004 se detectó en Cataluña el vector causante de la mayoría de los casos de dengue diagnosticados en esa fecha en Europa (*Aedes albopictus*) y, posteriormente, se diagnosticaron los primeros casos autóctonos transmitido por ese mismo vector, lo que supuso en España la declaración de esta enfermedad como una Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO). Por estos motivos, el objetivo general que se plantea en este trabajo es la revisión de diferentes aspectos del virus del dengue, de la enfermedad que produce en el ser humano y de los casos diagnosticados en España.

Para el cumplimiento de este propósito se plantearon una serie de objetivos específicos:

- Analizar las características y estructura del virus del dengue, su mecanismo de replicación en la célula huésped y la enfermedad que produce en el ser humano.
- Describir la epidemiología del dengue, así como los factores de riesgo y transmisión.

- Examinar la distribución de los mosquitos vectores que transmiten la enfermedad, los métodos de control y prevención para evitar su picadura y los diferentes factores, tanto ambientales como sociales, que influyen en su expansión.
- Detallar los avances en el diagnóstico de la enfermedad, en su tratamiento y, especialmente, en el desarrollo de vacunas como método profiláctico.

## **METODOLOGÍA**

Para realizar esta revisión bibliográfica se ha buscado información en diferentes fuentes de conocimiento.

En primer lugar se realizó una búsqueda general en diferentes bases de datos como *PubMed* y *MedLinePlus*. Para ello utilizamos la palabra “dengue”, pero debido a la gran cantidad de artículos que se obtuvieron, se filtró la búsqueda seleccionando las revisiones y una antigüedad reciente. Una vez obtenida una idea general sobre el virus del dengue se realizaron nuevas búsquedas utilizando palabras como “dengue transmission”, “dengue epidemiology”, “dengue diagnosis”, “dengue treatment”, “dengue vector”, entre otras, para así obtener información más detallada y precisa sobre diferentes aspectos del virus y de la enfermedad.

A continuación se buscó información en la web de la Organización Mundial de la Salud (OMS) acerca de la diferente incidencia de la enfermedad a lo largo del tiempo, también se utilizaron diferentes guías elaboradas por *Pan American Health Organization* (PAHO) para obtener información sobre las manifestaciones clínicas, cómo actuar clínicamente en pacientes con esta enfermedad, los diferentes métodos de diagnóstico según el momento de la enfermedad, así como los tratamientos convencionales y los avances en nuevos tratamientos. Otra página web utilizada fue la del *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), en la que se encontró información acerca de la historia y tendencia actual del dengue en los diferentes países donde está presente.

Por último, fueron de gran utilidad una serie de guías y documentos elaborados por el Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social (MSCBS) sobre los primeros casos de Dengue autóctono que se produjeron en España y el procedimiento seguido ante los mismos, así como información general sobre la enfermedad, su diagnóstico y tratamiento.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1. Historia del virus del dengue**

El virus del dengue se clasifica en el grupo de los arbovirus, que son un conjunto de virus transmitidos por artrópodos. Pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género *Flavivirus* (Velandia and Castellanos, 2011). Se transmite por la picadura del mosquito hembra de las especies *Aedes aegypti* y *A. albopictus*, que también son responsables de la transmisión de los virus Zika y Chikungunya (Guzmán and Harris, 2015). La enfermedad producida por este virus se caracteriza por provocar síntomas debilitantes, principalmente la aparición repentina de fiebre alta que suele ir acompañada por otros síntomas como artralgia, mialgia, anorexia, erupción cutánea, o dolor retroorbitario (Katzelnick et al., 2017). Por los síntomas que producía, se le llamaba “fiebre de los 7 días” o “fiebre quiebrahuesos” (Simmons et al., 2012).

El origen de la palabra dengue no se conoce con seguridad, ya que existen dos teorías acerca de su posible procedencia. La primera de ellas afirma que proviene de una mala interpretación de la palabra “dandy” por parte de los españoles que se encontraban en el Caribe en el siglo XVII, ya que los ingleses llamaban a esta enfermedad “dandy fever”. Por otra parte, existe una segunda teoría que expone que el origen proviene de una frase de una tribu de África Oriental, llamada swahili, que dice así: “kadinga pepo”. El significado de esta frase es un tipo de dinga que corresponde con un espasmo muscular doloroso. Esta segunda teoría es más aceptada que la primera (Olivares, 2002).

El virus del dengue ha acompañado al ser humano desde tiempos remotos, tanto es así, que existe la hipótesis de que el virus evolucionara en primates y, posteriormente, pasara al ser humano en África o en el sudeste de Asia hace 500-1000 años. La primera descripción de una enfermedad que podría coincidir con el dengue se encuentra en una enciclopedia de remedios y síntomas correspondiente a la dinastía china Jin del año 265-420 después de Cristo (Olivares, 2002).

Más adelante se produjeron una serie de epidemias de forma simultánea en los continentes de Asia, África y América (1779-1780), por lo que se puede deducir que tanto el virus como el vector que lo transmite se encontraban ampliamente distribuidos en las áreas tropicales. Las siguientes epidemias durante este periodo se fueron produciendo de forma relativamente lenta ya que la introducción de un nuevo serotipo del virus en una población susceptible dependía de que tanto el virus como el vector sobrevivieran a los transportes, que en esta época eran lentos veleros (OMS, 2019).

Uno de los puntos críticos para la extensión geográfica de este virus fue el periodo posterior a la Segunda Guerra Mundial, ya que se produjo una epidemia de dengue en el Sureste Asiático, que desde entonces se ha dispersado por el resto del mundo.

En la actualidad, son más comunes las epidemias producidas por múltiples serotipos (hiperendemicidad), debido a la extensión geográfica del virus y su vector, llegando a producirse casos autóctonos en lugares dónde su presencia no era común, como Europa e incluso España (Figura 1) (CDC,2015).



**Figura 1.** Distribución mundial de los 4 serotipos del virus con interés epidemiológico (Guzmán et al., 2010).

## 2. Características del virus del dengue

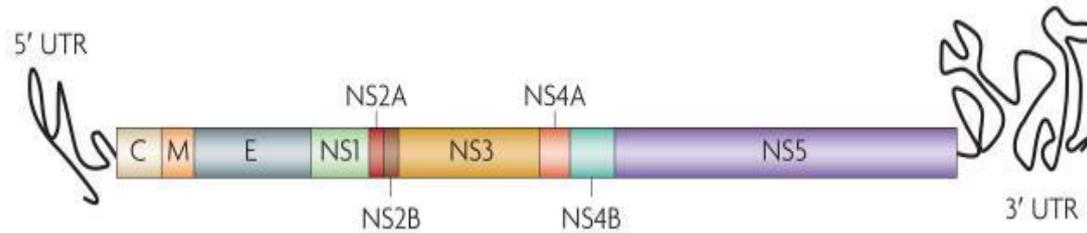
### 2.1 Estructura

El virus del dengue (DENV) tiene un diámetro de 40-60 nm y una simetría icosaédrica. El exterior de esta partícula viral está constituido por una envoltura, procedente de la membrana de la célula hospedadora. En la parte interna del virus se encuentra el complejo riboproteico, que está formado por las proteínas de la cápside y el genoma viral (ambos forman la nucleocápside) (Lindenbach et al., 2007).

### 2.2 Genoma

El material genético del virus está formado por una hebra monocatenaria de ARN de sentido positivo, presenta una longitud aproximada de 11 Kb y codifica a una poliproteína que tiene aproximadamente 3000 residuos de aminoácidos (Shu and Huang, 2004). Esta poliproteína, tras sufrir diversos cortes, da lugar a tres tipos de proteínas estructurales: las de la cápside(C), las de la membrana (M) y las de la envoltura (E), y a siete proteínas no estructurales, denominadas

NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5. Además, en los extremos del genoma se encuentran dos regiones libres: 5' UTR y 3' UTR (Figura 2) (Guzmán et al., 2010).



**Figura 2.** Genoma del virus del dengue (Guzmán et al., 2010).

Tanto las proteínas estructurales como las que no lo son tienen diversas funciones en la unión del virus a la célula hospedadora y en la replicación viral.

La proteína E es la principal proteína estructural del virus, está situada en la superficie del virión y se encarga de las funciones biológicas más importantes como la unión al receptor, la hemaglutinación y la inducción de anticuerpos neutralizantes. También participa en la respuesta inmune protectora y establece el serotipo. Otra proteína estructural es la proteína C, que favorece la formación de la nucleocápside, mientras que la proteína M se encuentra en la superficie de los viriones inmaduros en forma intracelular (Kuhn et al., 2002).

La proteína no estructural NS1 se encarga del ensamblaje del virus, mientras que la proteína NS2 (NS2A y NS2B) participa en la replicación del ARN. La subunidad NS2B forma un complejo con la proteína NS3, siendo esta última uno de los componentes de la maquinaria enzimática de replicación del ARN. La proteína NS4 (NS4A y NS4B) se encarga de unir componentes de la replicasa viral a la membrana de la célula. La última proteína no estructural que codifica el genoma del virus es la NS5 que es la única polimerasa que participa en la replicación y transcripción del virus (Faheem et al., 2011).

Hace unos años se conocían sólo cuatro serotipos del virus: DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4 (Nukui et al., 2006), pero en octubre de 2013 se aisló un nuevo tipo, denominado DENV-5, que procede del ciclo selvático, a diferencia de los cuatro anteriores que proceden del ciclo humano. En un principio se pensaba que este serotipo era una variante del DENV-4, pero tras llevar a cabo el aislamiento del virus y la secuenciación completa de su genoma, se detectó que era filogenéticamente distinto al resto de serotipos conocidos. Además al infectar monos Rhesus con este nuevo serotipo, se observó la producción de una serie de anticuerpos diferentes a los obtenidos anteriormente con el resto de serotipos (Mustafa et al., 2015).

Los cuatro primeros serotipos sólo comparten el 65% de su genoma (Holmes, 1998). Cualquiera de ellos puede producir los síntomas característicos de la enfermedad, relacionándose la gravedad de la misma con el tipo de serotipo. Los casos graves de la enfermedad se suelen asociar al DENV-2 y DENV-3 (Martina et al., 2009).

### 2.3 Variantes genómicas

Actualmente la clasificación de los cinco serotipos del virus del dengue se realiza basándose en los diferentes anticuerpos que producen, a diferencia de los genotipos que se clasifican en función de las diferencias que presentan en la secuencia de nucleótidos. El serotipo DENV-5, identificado recientemente no presenta interés epidemiológico ya que sólo se ha identificado en el ciclo selvático, por lo tanto no aparece aún en las tablas de clasificación del virus (Quintero et al., 2010).

Las diferencias en la secuencia de nucleótidos entre los diferentes genotipos supone un elevado grado de variabilidad genética debido a la falta de actividad a prueba de errores de la ARN polimerasa, que da lugar a una diferenciación en la replicación, transmisión y virulencia del virus (Dewi et al., 2009).

Hasta alcanzar el término “genotipo”, previamente, se llevaron a cabo una serie de ensayos. El primero de ellos demostró variantes antigénicas en DENV-3 entre cepas americanas y asiáticas. Posteriormente, se utilizó el término “topotipo” para definir variantes en el serotipo DENV-2. Por último, la utilización de métodos de secuenciación de ácidos nucleicos y su análisis filogenético permitió alcanzar el término “genotipo” y definirlos como la presencia de diferentes grupos genómicos dentro de cada serotipo, es decir, pequeñas diferencias genéticas que permiten su diferenciación dentro del serotipo (Amarilla et al., 2009).

El descubrimiento de los genotipos permitió una mayor comprensión de la dinámica del virus, así como la detección de virus emergentes (Quintero et al., 2010). Como consecuencia, se han diferenciado diferentes genotipos de DENV a escala mundial (Lambrechts et al., 2009), distinguiéndose cinco genotipos para DENV-1, otros cinco para DENV-2, cuatro para DENV-3 y cuatro para DENV-4 (Tabla 1) (Quintero et al., 2010).

**Tabla 1.** Distribución geográfica mundial de los genotipos de DENV con interés epidemiológico (Quintero et al., 2010).

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

#### 2.4 Replicación

El ciclo de replicación del virus del dengue se inicia cuando éste se acerca a la superficie de la célula hospedadora, tras la picadura del mosquito hembra infectado. Para que se produzca la unión a la célula huésped, la proteína E viral interactúa con proteínas y proteoglicanos (favorecen el acercamiento por su carga negativa) de la membrana celular, produciéndose de esta forma la unión y posterior penetración del virus por endocitosis (Islam et al., 2015).

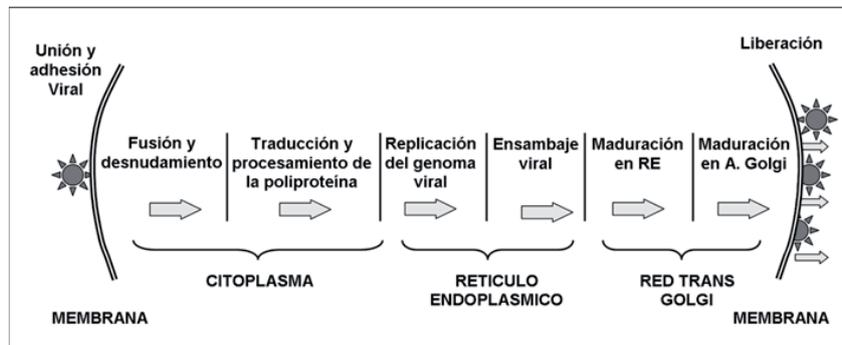
No se conoce con exactitud cuáles son los receptores que interactúan con la proteína E, aunque entre los posibles candidatos se encuentra el receptor de laminina LAMR1, que sería el que promueve la endocitosis y otros, como ICAM-3 y DC-SIGN (Velendia and Castellanos, 2011).

El siguiente paso que se produce es la transformación de la vesícula endocítica a endosoma temprano, tardío y posterior fusión con el lisosoma. Como consecuencia se reduce el pH, dando lugar a un cambio conformacional de la proteína E que produce la liberación de la nucleocápside al citoplasma (Islam et al., 2015).

Aunque el mecanismo no está descrito totalmente, en el citoplasma celular tiene lugar tanto la replicación del ARN viral como su traducción para dar lugar a un polipéptido completo que será procesado en el retículo endoplasmático (RE), mediante la acción de proteasas y de la proteína viral NS3 (Velendia and Castellanos, 2011). Gracias a la actividad de NS3 se liberan todas las proteínas, tanto las estructurales como las no estructurales, que sufren el proceso de

ensamblaje en el mismo RE. A continuación tiene lugar el proceso de maduración en el aparato de Golgi.

Por último, las nuevas partículas virales son liberadas al exterior por exocitosis y la proteína E sufre un cambio conformacional favorecido por el pH neutro extracelular. De esta forma se puede iniciar un nuevo ciclo viral al ser reconocida por otras células (Figura 3) (Islam et al., 2015).



**Figura 3.** Diagrama del ciclo de vida del virus del dengue y su localización subcelular (Velencia and Castellanos, 2011).

### 2.5 Patogénesis y respuesta inmune

Cuando el virus penetra en el organismo puede ocasionar daños en monocitos, macrófagos, células dendríticas, queratinocitos y linfocitos CD4+ y CD8+. Aunque éstas sean las células que el virus infecta de forma habitual, también puede hacerlo en otras como hepatocitos, endotelio, fibroblastos, neuronas y plaquetas. En esta última incluso puede llegar a realizar un ciclo viral completo (Sutherland et al., 2015).

Las primeras células que infecta el virus son las células dendríticas y los queratinocitos, desde donde migran a los ganglios linfáticos, se multiplican y diseminan la infección (Mustafa et al., 2015).

Cuando tiene lugar la primera infección por el DENV, los anticuerpos neutralizantes producidos actúan principalmente sobre la proteína E, ya que es la que presenta mayor exposición en el virus. Se ha observado que también pueden actuar sobre la proteína M, la proteína C y sobre las proteínas no estructurales, aunque en menor medida (Murphy and Whitehead, 2011).

La primera acción que realiza el sistema inmune tras la infección es la producción de interferones (IFN) de tipo I ( $\alpha$  y  $\beta$ ), y la activación del sistema del complemento (Islam et al., 2015). Al mismo tiempo, tiene lugar una estimulación de los linfocitos *Natural Killer* como consecuencia del reconocimiento de las células presentadoras de antígenos y las células infectadas,

produciéndose una cascada defensiva. La estimulación tanto de estas células como de los linfocitos T CD8+ derivará en un estado antiviral y proinflamatorio, produciéndose y liberándose una mayor cantidad de interleucinas: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-13, IL-18, TGF-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN de tipo II ( $\gamma$ ) (Figura 4) (Montes de Oca et al., 2014).

Ante una infección primaria la respuesta inmune adaptativa consiste en la producción de IgM por parte de las células B, y posteriormente de IgG (IgG1 y IgG3), para combatir los antígenos virales (Martina et al., 2009).

Al producirse una segunda infección por el virus tendrá lugar una respuesta inmediata de IgG, mientras que la respuesta de IgM se producirá de forma más tardía, a diferencia de lo que ocurría en la infección primaria (Murphy and Whitehead, 2011).

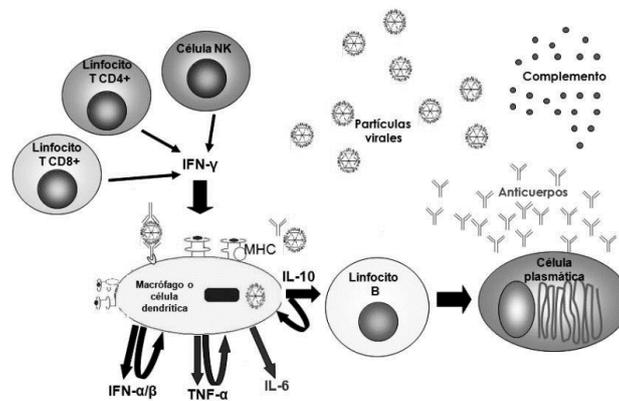
Tras la infección por un determinado serotipo del DENV se origina una inmunidad homotípica prolongada, mientras que la inmunidad heterotípica sólo será transitoria. No se conoce totalmente a qué se debe, pero sí que en parte es por la similitud conformacional de la proteína E entre los distintos serotipos del DENV (Martina et al., 2009).

Una segunda infección por un serotipo DENV diferente al que produjo la primera infección desencadenará un proceso llamado mejora dependiente de anticuerpos (AED). Este fenómeno se debe a que tras los anticuerpos neutralizantes producidos durante la primera infección, la IgG secretada durante la segunda infección no es capaz de neutralizar al virus. En cambio se unen a él, posteriormente a los macrófagos o monocitos, favoreciendo la endocitosis del virus pero sin inactivarlo, potenciando de esta forma su capacidad para realizar el ciclo viral (Velendia and Castellanos, 2011). Sin embargo, en una infección post-secundaria por otro serotipo de DENV el anticuerpo actúa neutralizando de forma correcta al virus (Katzelnick et al., 2017).

La AED produce una reacción inflamatoria, en la que hay un componente de inmunidad celular. Ante una infección secundaria heteróloga las células T CD8+ de memoria no actúan de forma correcta, ya que producen una mayor secreción de interleucinas, siendo su actuación menos efectiva para eliminar el virus, a diferencia de cuando se trata de una infección secundaria homóloga (Islam et al., 2015).

Ante infecciones primarias y secundarias, el sistema del complemento actúa combatiendo a los patógenos. En el caso de pacientes con dengue grave se ha observado niveles altos de productos de C3a y C5a en plasma, que se consumirán de forma muy rápida, derivando en una disminución del complemento (Kurosu et al., 2007).

Existen varios mecanismos que intentan explicar este hecho, pero uno de los más importantes es por la activación directa de la proteína NS1. Esta proteína actúa directamente sobre el complemento, produciendo la activación del complejo de ataque sobre la membrana, tanto cuando se expresa por células infectadas como en la fase secretada (Chuang et al., 2013).

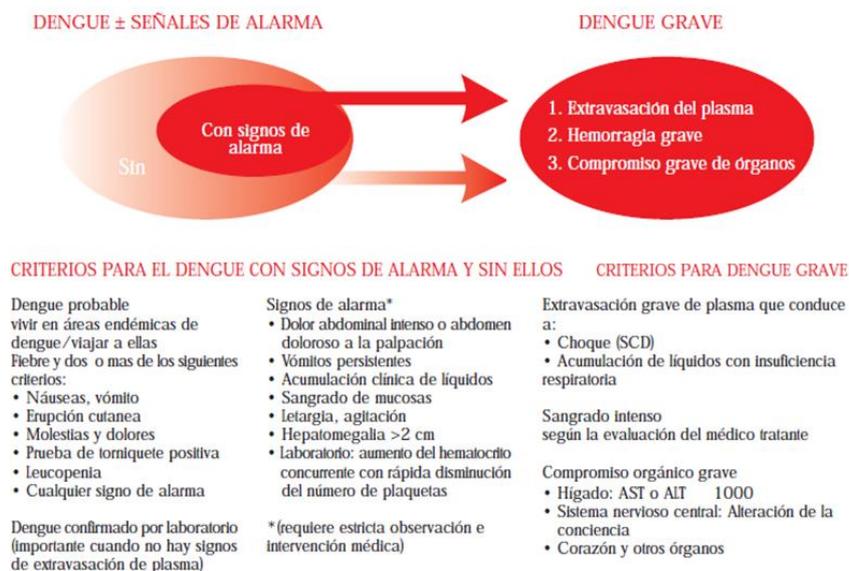


**Figura 4.** Esquema general de la respuesta inmune contra el DENV (Salazar et al., 2009).

### 3. Clasificación del dengue según la OMS

La clasificación de la enfermedad del dengue no es fácil de realizar, ya que puede presentar cuadros clínicos distintos, además de una evolución y resultados que pueden variar de un paciente a otro.

La OMS realizó en el año 2009, una clasificación de la enfermedad, que es la que se sigue empleando actualmente, basándose en la gravedad: dengue (con y sin signos de alarma) y dengue grave (Figura 5) (TDR and OMS, 2009).



**Figura 5.** Clasificación de casos de dengue y niveles de seguridad (OPS, 2015).

Esta clasificación sustituyó a la existente hasta ese momento: fiebre del dengue (FD) y fiebre hemorrágica del dengue (FHD), ya que no permitía clasificar incontables casos confirmados por el laboratorio (OMS, 1997). Esta clasificación suponía una limitación epidemiológica, debido a que se pensaba que la gravedad de la enfermedad derivaba del sangrado y no de la extravasación del plasma, como verdaderamente ocurre. Además, no se podía aplicar a todos los casos porque necesitaba confirmación mediante pruebas de laboratorio, que en ocasiones no se podían obtener por motivos económicos o de brote epidémico. Otra limitación era la clasificación de forma retrospectiva, es decir, cuando cumplía los requisitos de la definición y por lo tanto el diagnóstico se realizaba cuando la forma grave ya estaba presente (Bandyopadhyay et al., 2006). Por otro lado se pensaba, de forma errónea, que la forma benigna era la fiebre del dengue, mientras que la fiebre hemorrágica del dengue coincidía con la grave, no administrándose los recursos humanos y económicos en muchas ocasiones de forma correcta (Narváez et al., 2011).

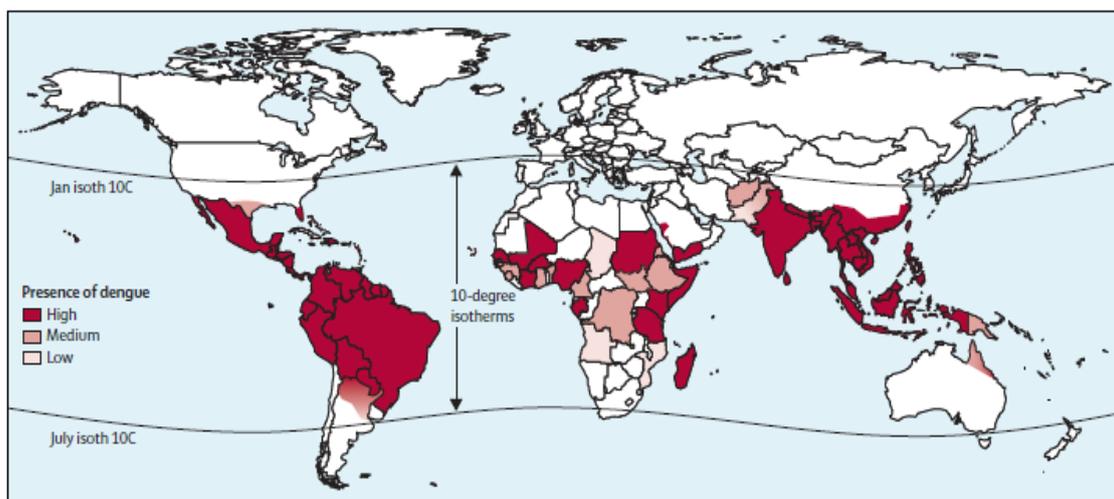
Por lo tanto, la clasificación actual permite al médico tratar y seguir la evolución del paciente de forma prospectiva, engloba a todos los casos de la enfermedad (incluido los graves) gracias a la identificación de los signos de alarma (Horstick et al., 2015) y es anticipatoria (Lovera et al., 2014).

A pesar de las ventajas que ofrece esta nueva clasificación, es necesario seguir investigando para superar determinadas limitaciones como conseguir una clasificación integral, ampliar su uso a todos los centros de atención de la salud y no sólo a hospitales, y fomentar que la atención primaria sea la principal vía para atender los casos de enfermedad (Srikiatkachorn et al., 2011).

#### 4. Epidemiología

El dengue ha pasado de ser una enfermedad esporádica a ser un problema de salud pública en numerosos continentes, siendo 3600 millones de personas las que se encuentran en zonas de riesgo de transmisión de la enfermedad (Figura 6) (Katzelnick et al., 2017).

La enfermedad es endémica en Asia, América latina, el Pacífico y África, y actualmente se han diagnosticado casos también en el continente europeo y Estados Unidos (Bhatt et al., 2013).

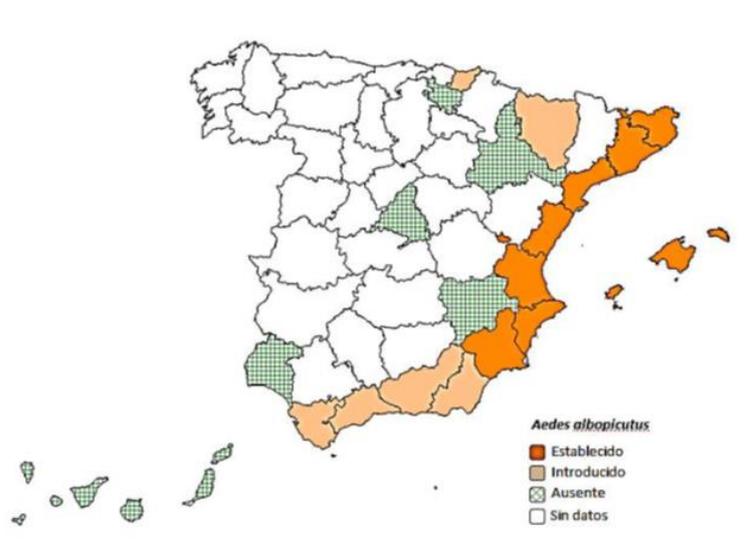


**Figura 6.** Carga global del dengue (Guzmán and Harris, 2015).

La verdadera carga de la enfermedad no se conoce totalmente, sobre todo en países como India, Indonesia, Brasil y China, y en el continente africano. Los motivos son la ausencia de notificación por la presencia de otras enfermedades como el Zika o motivos económicos que dificultan su diagnóstico (Guzmán and Harris, 2015).

En Europa cada vez son más los casos diagnosticados por dengue importado, aunque se han detectado casos de dengue autóctono en Francia (La Ruche et al., 2010) y Croacia (Gjenero-Margan et al., 2011). También se han detectado brotes en la Isla Reunión (Francia) y en la Isla de Madeira (Portugal), por la presencia de los vectores *Aedes aegypti* y *A. albopictus*, respectivamente (Wilder-Smith et al., 2014).

En España, al igual que en el resto de Europa, han ido aumentando los casos de dengue importado, pero también se han diagnosticado los primeros casos de dengue autóctono. El vector responsable es *Aedes albopictus*, detectado por primera vez en Cataluña en 2004 (Figura 7). Posteriormente se ha ido extendiendo por la región Mediterránea, las islas Baleares, Andalucía e incluso por algunas zonas del interior peninsular como Vizcaya y Guipúzcoa (MSCBS, 2016).



**Figura 7.** Provincias dónde se ha detectado la presencia de *A. albopictus* (MSCBS, 2016).

Los tres primeros casos autóctonos fueron detectados en tres personas de una misma familia de la región de Murcia, que habían pasado sus vacaciones en la provincia de Cádiz. Tras el regreso comenzaron los síntomas, requiriendo hospitalización sólo uno de ellos, con posterior recuperación. Los casos fueron confirmados por el Centro Nacional de Microbiología (CNM) en octubre de 2018 (MSCBS, 2018).

Los dos casos siguientes también fueron confirmados en octubre de 2018 por el CNM, en dos familiares, también de la región murciana. A diferencia de los casos anteriores, estas personas no habían realizado ningún viaje en los 15 días previos al inicio de los síntomas. También se recuperaron de forma correcta. La única relación que presentaban con los casos anteriores era su estancia en una localidad de Murcia en la que el vector *A. albopictus* está presente. Se realizaron búsquedas de vectores y pruebas de laboratorio para identificar el virus en los mosquitos, pero todas las muestras estudiadas dieron resultados negativos (MSCBS, 2018).

Tras una serie de pruebas de laboratorio en los pacientes afectados, se identificó el DENV-1 como el responsable de los tres primeros casos, por lo que se cree que los otros casos también debieron ser causados por el mismo serotipo (MSCBS, 2018).

Posteriormente, en noviembre de ese mismo año, se diagnosticó en Cataluña el último caso hasta el momento, en un joven que tampoco había realizado viajes en los días anteriores al inicio de los síntomas, recuperándose también satisfactoriamente (MSCBS, 2018).

Es posible que se produzcan nuevos casos autóctonos próximamente, debido a la presencia de un vector capacitado para llevar a cabo la transmisión (*A. albopictus*), a la llegada de numerosos viajeros o inmigrantes que provienen de zonas endémicas y pueden tener o desarrollar la fase

activa de la enfermedad en España e introducir de esta forma el virus, y a las condiciones climáticas adecuadas para que se desarrolle el ciclo biológico una vez introducido el virus previamente (Collantes et al., 2014).

### 5. Vectores y proceso de transmisión

Como se ha comentado previamente, el dengue es una enfermedad transmitida por mosquitos, siendo actualmente la que se propaga de forma más rápida y con mayor frecuencia en humanos (Guzmán and Harris, 2015).

Aunque las principales especies transmisoras son *Aedes aegypti* y *A. albopictus* (Katzelnick et al., 2017), también se han producido brotes por otros miembros del mismo género como es el caso de *A. polynesiensis* y *A. scutellaris* (Fai and Eong, 2012).

Aunque la principal forma de transmisión es el mosquito-humano (ciclo urbano), se han producido casos de transmisión humano-humano, de forma excepcional, a través de transfusiones, trasplantes o embarazos (Rosso et al., 2018).

La especie *A. aegypti* tiene su origen en el África Subsahariana, aunque actualmente se encuentra distribuida por zonas tropicales y subtropicales de América, Asia y África, detectándose incluso en zonas de Estados Unidos, islas del Océano Índico y parte de Australia (MSCBS, 2018). También se han identificado miembros de esta especie en varios puntos de Europa como Holanda o la región cercana al Mar Muerto, tras su desaparición en el siglo XX (Medlock et al., 2014).

Al ser un mosquito adaptado a vivir en áreas urbanas, desarrolla su ciclo biológico en el interior o alrededor de las casas (TDR and OMS, 2009). Este ciclo se explicará con detalle más adelante, junto con el de *A. albopictus*.

El mosquito *A. albopictus* conocido comúnmente como “mosquito tigre”, se encontraba originariamente en Asia, pero debido al comercio internacional de neumáticos usados y de “bambú de la suerte”, se ha extendido a numerosos países de Europa (Eritja et al., 2005), detectándose por primera vez en Albania en 1979 (Adhami et al., 1998).

El cuerpo de *A. albopictus* presenta un color negro intenso, con ornamentación plateada en tórax y abdomen, patas a bandas de color negro y blanco, caracterizándose por una conspicua línea blanca longitudinal central en el tórax y cabeza. Su tamaño suele oscilar entre 5-10 mm (Medlock et al., 2014).

La descripción de *Aedes aegypti* es similar, pero se diferencia de la anterior, por la presencia de diversas líneas similares a una lira en el tórax, de color plateado y fondo negro (Figura 8) (MSCBS, 2018).

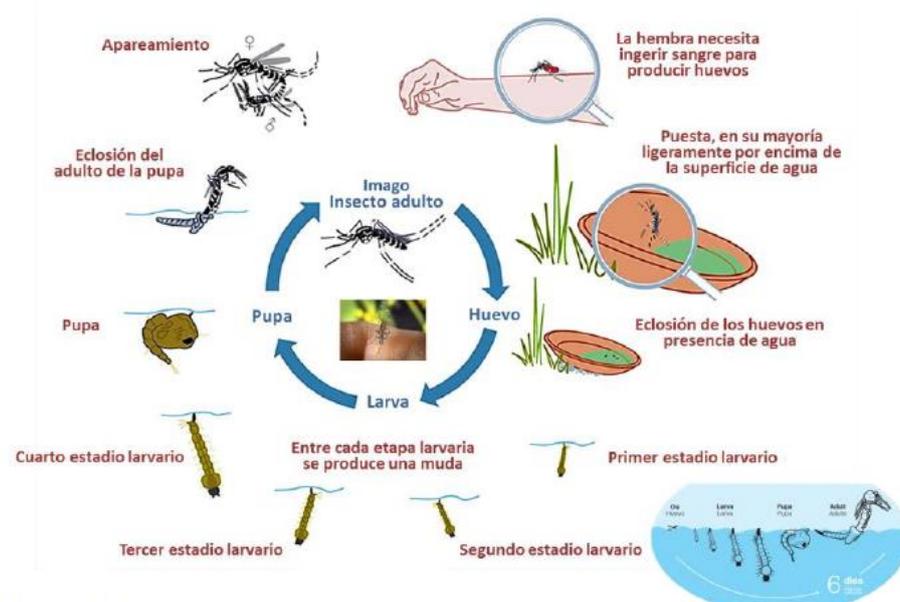


**Figura 8.** Mosquito hembras del género *Aedes*. A la izquierda se observa la especie *A. aegypti* y a la derecha *A. albopictus* (CDC, 2016).

Las hembras son las que realizan las picaduras en los seres humanos, mientras que los machos se alimentan de néctar y sustancias azucaradas. Para llevar a cabo estas picaduras presentan un aparato picador fino y alargado, denominado probóscide, además poseen una serie de palpos cercanos al aparato picador para detectar el CO<sub>2</sub> expulsado por el ser humano en la respiración y proceder a realizar la picadura (Aranda et al., 2006).

El ciclo biológico del virus comienza con la puesta de huevos (resistentes al calor y a la ausencia de lluvia) por parte del mosquito hembra en un recipiente que contenga agua estancada. Esta puesta la realiza justo en el límite que no se encuentra en contacto con el agua, de forma que las lluvias futuras activarán inmediatamente la eclosión de las larvas (Eritja et al., 2005). A continuación tiene lugar cuatro fases larvianas, con posterior formación de la pupa, que tras la metamorfosis formará el insecto adulto (Figura 9) (Aranda et al., 2006).

Este ciclo se puede aplicar a ambos vectores, pero presentan una pequeña diferencia. *A. albopictus* es capaz de producir huevos hibernantes con diapausa, mientras que *A. aegypti* sólo es capaz de producir huevos quiescentes. Por esta razón el primero de ellos se encuentra en zonas periurbanas y rurales, mientras que el segundo sólo se localiza en zonas urbanas (MSCBS, 2018).



**Figura 9.** Ciclo biológico de los mosquitos *A. aegypti* y *A. albopictus* (MSCBS, 2018).

Tras la formación del mosquito adulto, sólo la hembra se alimentará de sangre humana para obtener la energía requerida para la próxima puesta de huevos (ovogénesis). En el caso de que la infección en el ser humano se encuentre en la fase de viremia, le transmitirá el virus al mosquito. A continuación el virus infecta el intestino delgado del mosquito, que derivará en una infección sistémica en éste, en un periodo de 8-12 días. Pasado este tiempo el mosquito podrá infectar durante toda su vida a humanos cuando se alimente de su sangre, cerrando de esta forma el ciclo urbano de transmisión (TDR and OMS, 2009).

La formación de huevos hibernantes con diapausa, mencionada anteriormente, es la responsable de la adaptación de *A. albopictus* a las temperaturas templadas del continente europeo. En España estos mosquitos presentan diapausa facultativa (dependiente de condiciones ambientales), que les permite tolerar adecuadamente las temperaturas frías del invierno hasta la llegada de la primavera y de las lluvias, que supondrán el inicio de su eclosión (Aranda et al., 2006).

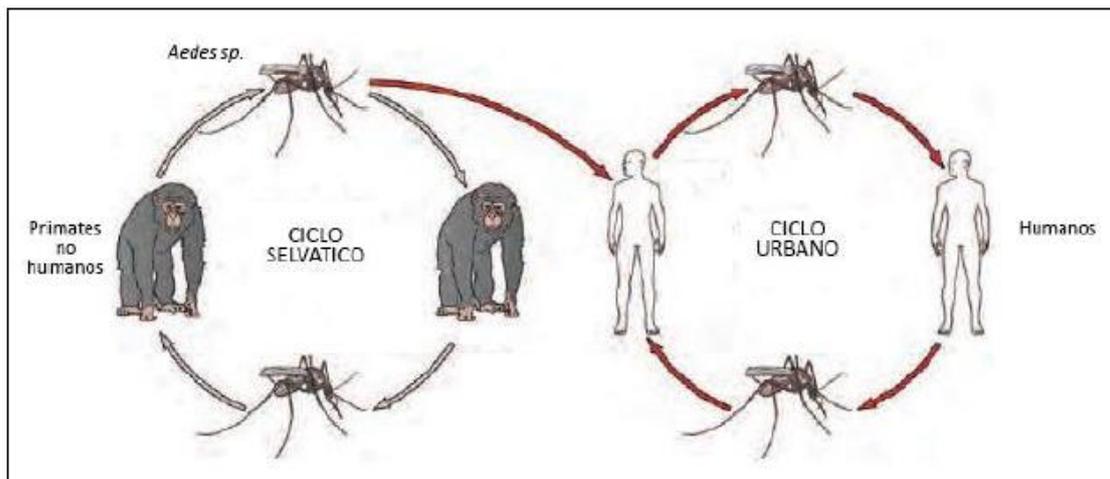
Ambas especies del género *Aedes* elegirán como zonas de crías recipientes que contengan agua como jarrones, neumáticos abandonados, platos de las macetas, cubos del aire acondicionado, canalizaciones externas, teniendo preferencia *A. aegypti* por recipientes artificiales, mientras que *A. albopictus* prefiere lugares naturales, como agujeros en troncos de árboles o cañas de bambú (Medlock et al., 2014).

Los mosquitos responsables de la enfermedad tienen hábitos diurnos, es decir, las picaduras se producen durante el día, teniendo una mayor prevalencia al amanecer y atardecer (Guzmán and Harris, 2015).

### 5.1 Otros ciclos de transmisión

Aunque la principal forma de transmisión del virus es mediante el denominado ciclo urbano, donde el hospedador es el hombre, el virus también puede transmitirse mediante un ciclo selvático, en el que el hospedador son los primates no humanos. (Figura 10) (Vasilakis et al., 2011).

El paso del ciclo selvático al urbano tiene como finalidad la amplificación del virus, actuando el ser humano como huésped amplificador. De esta forma los virus logran transmitirse de forma eficaz y provocar grandes epidemias como ocurre en los casos del dengue, la fiebre amarilla y la fiebre Chikungunya (Weaver and Reisen, 2010).



**Figura 10.** Ciclo selvático y urbano del virus del dengue (Knipe and Howley 2013).

### 6. Factores ecológicos, ambientales y sociodemográficos

La presencia del mosquito es fundamental para la extensión geográfica y reaparición de la enfermedad. Uno de los factores que más ha contribuido a ello ha sido la globalización, ya que ha aumentado el número de viajes internacionales procedentes de áreas endémicas, que puede introducir casos importados en lugares libres de la enfermedad e incluso contribuir a la aparición de casos autóctonos en lugares donde el vector se encuentre establecido (Guzmán and Harris, 2015).

Otra consecuencia de la globalización es el incremento del comercio internacional en áreas donde los vectores competentes estén establecidos, introduciéndolo de esta forma en otras áreas libres del mismo, como ocurrió con la llegada de la especie *A. albopictus* a través del comercio de neumáticos (Liang et al., 2010).

Por otro lado, el cambio climático ha provocado un aumento de las temperaturas, lluvias y humedad. Como consecuencia, aumentan los periodos de actividad del mosquito adulto, sus tasas de reproducción y el contacto con el hombre, además de provocar una reducción del tiempo de los ciclos de reproducción. Otro desencadenante del cambio climático es el desplazamiento de las isoterms, aumentando las zonas geográficas dónde puede establecerse el vector, como ocurre en España (MSCBS, 2013).

Por último, en las últimas décadas se ha producido un incremento descontrolado de la población y de viviendas o lugares de ocio adecuadas para la cría y establecimiento del vector, como urbanizaciones o campos de golf (Kantor, 2016).

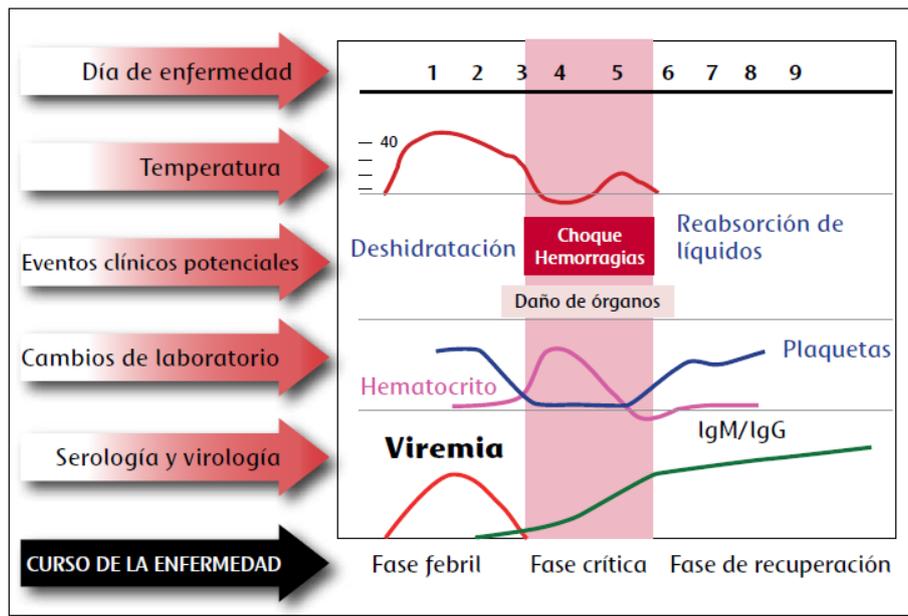
El conjunto de estos factores ha derivado en una extensión geográfica tanto del vector como de la enfermedad, alcanzado áreas que se encontraban libres, como ha ocurrido con numerosos países europeos. Por lo tanto se deberían aumentar los sistemas de vigilancia para reducir o eliminar los brotes de una enfermedad que se ha convertido en una emergencia mundial.

### 7. Manifestaciones clínicas

El dengue es una enfermedad sistémica y dinámica, ya que en pocas horas el paciente puede evolucionar de la forma leve a la grave. El desarrollo clínico puede ser muy variado, desde formas asintomáticas a manifestaciones clínicas de diferente gravedad (Rigau-Pérez et al., 1998).

La mayor parte de los pacientes se recuperan, mientras que una minoría progresa a la forma grave de la enfermedad, caracterizada por fuga plasmática que puede ir acompañada de sangrado, aunque no de forma obligatoria (Guzmán and Harris, 2015).

Tras la picadura del mosquito hembra infectado, tiene lugar en el huésped un periodo de incubación que puede ser de 3 a 14 días, siendo común de 4 a 10. Seguidamente comienza la enfermedad, que se manifiesta de forma abrupta, desarrollándose en tres fases: febril, crítica y de recuperación (Figura 11) (Yip, 1980).



**Figura 11.** Curso de la enfermedad (Yip, 1980).

Durante la fase febril, el paciente desarrolla fiebre muy elevada y de forma rápida, pudiendo ser bifásica. La duración oscila de 2 a 7 días, coincidiendo con la viremia, por lo que puede transmitir el virus si es picado por un mosquito vector (Rigau-Pérez et al., 1998).

La fiebre suele ir acompañada por varios de los siguientes síntomas: mialgia, artralgia, erupción cutánea, enrojecimiento facial, dolor corporal generalizado y dolor retroorbitario, aunque es común la presencia de síntomas digestivos, como náuseas o vómitos (Katzelnick et al., 2017). También se puede detectar un aumento del tamaño del hígado (Rigau-Pérez et al., 1998), así como una bajada del número total de glóbulos blancos (Srichaikul and Nimmannitya, 2000) y bradicardia (Lateef et al., 2007).

Al inicio es difícil diferenciarla de otras enfermedades que cursen con fiebre aguda (Campagna et al., 2006). La Prueba del Torniquete positiva ayuda a decidir si se trata de dengue u otra enfermedad febril, aunque no con certeza absoluta (Figura 12) (Cao et al., 2002).



**Figura 12.** Prueba Torniquete positiva (CDC, 2015).

Estas manifestaciones clínicas van a ser comunes entre los pacientes que se recuperarán y los que desarrollarán la forma grave de la enfermedad (Bandyopadhyay et al., 2006).

Seguidamente se produce defervescencia febril, iniciándose la fase crítica de la enfermedad, dónde es posible diferenciar dos tipos de pacientes. Si se observa una mejoría en el paciente se denominarán casos de dengue sin signos de alarma, mientras que si por el contrario empeoran recibirán el nombre de casos de dengue con signos de alarma (Méndez and González, 2003).

Se caracteriza por un incremento de la permeabilidad capilar y de los niveles del hematocrito (Srikiatkhachorn et al., 2007), aunque también tiene lugar una linfocitosis y trombocitopenia (Kalayanarooj et al., 1997). Otros síntomas presentes durante esta fase son hemorragias en la mucosa nasal (epistaxis) y en las encías (gingivorragia) (Srikiatkhachorn et al., 2007).

En esta etapa es fundamental reponer la volemia del paciente, ya que si continúa la pérdida, el problema se agravará provocando hipoperfusión tisular y choque hipovolémico (Colbert et al., 2007).

La infección puede provocar daños en órganos de forma específica, provocando, principalmente, encefalitis, hepatitis, miocarditis o nefritis (Martínez et al., 2008).

Por ultimo tendrá lugar la fase de recuperación, con una duración de 48 a 72 horas. En esta etapa el líquido extravasado retornará al compartimento intravascular, acompañado de una mejoría general del paciente, con aumento del apetito y desaparición de los síntomas a nivel del aparato gastrointestinal. A pesar de la mejoría, puede aparecer un signo característico de esta fase llamado “islas blancas en un mar rojo” (Figura 13) como consecuencia de una erupción tardía (Kautner et al., 1997).



**Figura 13.** Erupción: “islas blancas en un mar rojo” (Srivastava, 2017).

En el hemograma se observará una estabilización de los niveles de hematocrito, junto con un aumento de neutrófilos y glóbulos blancos, y una disminución de los linfocitos (Oliveira et al., 2009).

El desarrollo del dengue grave está favorecido por una serie de factores. El principal es la reinfección por un serotipo diferente del virus, siendo DENV-2 y DENV-3 los que más se asocian a la gravedad. También dependerá del origen geográfico de la cepa, del intervalo de tiempo que transcurra de una infección a la siguiente y de la edad, asociándose mayor gravedad a edades extremas, tanto tempranas como tardías (OPS, 2015).

### 8. Diagnóstico

Se pueden diferenciar dos tipos de diagnóstico, denominados diagnóstico clínico y diagnóstico de laboratorio (Fai and Eong, 2012).

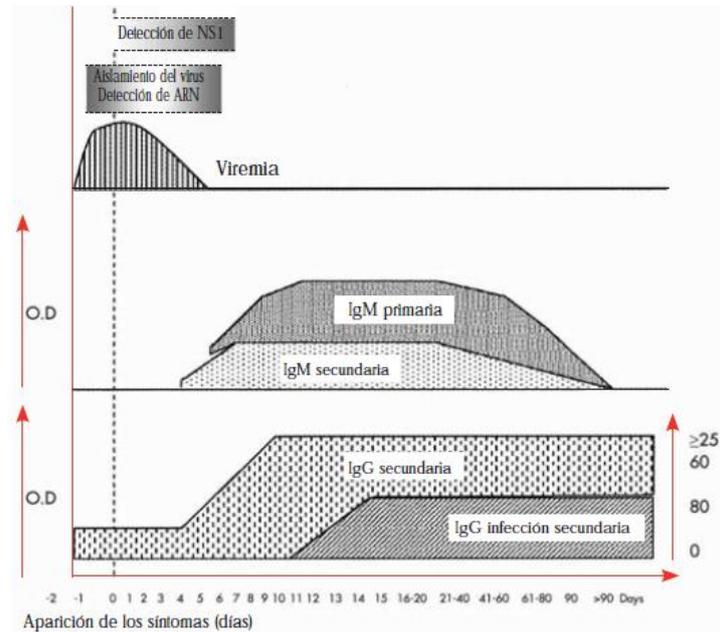
La aparición de una serie de signos y síntomas característicos de la enfermedad provocará una sospecha de posible infección en el personal de atención médica, iniciándose de esta forma el diagnóstico clínico. Como ya se ha mencionado, durante la fase febril el paciente presentará fiebre alta repentina, acompañada de molestias gastrointestinales, pero estos síntomas son comunes a los de otras enfermedades febriles. Los síntomas que ayudarán a realizar un diagnóstico diferencial serán la aparición de una erupción maculopapular, dolor retroorbitario o sangrado de la mucosa bucal o de las encías. Sin embargo, la aparición tardía de estos síntomas condicionaría el diagnóstico temprano de la enfermedad (TDR and OMS, 2009).

Para combatir esta limitación la OMS elaboró una lista de signos y síntomas, descrita previamente, cuyo objetivo es ayudar a realizar un diagnóstico diferencial de la enfermedad. En las áreas epidémicas esta lista es de gran utilidad para clasificar los casos sospechosos mientras se realizan las pruebas confirmatorias de laboratorio, pero no sirve para hacer un diagnóstico definitivo ya que posee limitaciones, como, por ejemplo, una baja sensibilidad en adultos de 56 años o mayores (Tanner et al., 2008).

También se han elaborado varios algoritmos para realizar un diagnóstico diferencial del dengue. Sin embargo, la falta de estandarización respecto a la recogida de datos, criterios de diagnóstico y diseño de los estudios, sumado a que no se han probado en países en los que circulan cepas diferentes del virus, hace que no sean muy utilizados y requieran una mayor investigación (Potts and Rothman, 2008).

Debido a la falta de especificidad es necesario el diagnóstico de laboratorio para poder confirmar de forma segura la enfermedad. Estas pruebas de laboratorio engloban desde el aislamiento viral, detección del genoma y algunos antígenos del virus, hasta la respuesta serológica del

organismo. La elección de una u otra prueba dependerá del momento en el que se encuentre la enfermedad y del tipo de infección (Figura 14) (Fai and Eong, 2012).



**Figura 14.** Línea temporal de infecciones primarias y secundarias y métodos de diagnóstico que se pueden usar para detectar la infección por el DENV (TDR and OMS, 2009).

Una de las primeras pruebas que se pueden realizar es el aislamiento del virus, ya que la viremia se puede detectar desde 2-3 días antes del comienzo de la fiebre hasta aproximadamente 5 días después de su inicio, tanto en infecciones primarias como secundarias. Las muestras que se pueden emplear son de sangre, suero o plasma (Vaughn et al., 2000). El método más sensible para realizar el aislamiento viral es la inoculación intratorácica de mosquitos adultos. Son varias las especies aceptadas para esta prueba, entre las que se encuentran *A. aegypti*, *A. albopictus* y las especies del género *Toxorhynchites* (Kuberski and Rosen 1977). Otros animales utilizados para el aislamiento y amplificación del virus del dengue son los ratones, generalmente no destetados, mediante inoculación intracerebral (Meiklejohn et al., 1952).

Actualmente no se utilizan animales de forma frecuente, debido al alto requerimiento técnico y económico. Como alternativa, el aislamiento viral se efectúa en líneas celulares, siendo la C6/36 la más común, obtenida de *A. albopictus*. También se utilizan otras líneas celulares derivadas de mamíferos, aunque presentan una menor sensibilidad, como las denominadas VERO, LLC-MK2 o BHK-21 (Gubler et al., 1984).

El aislamiento viral realizado de forma correcta puede serotiparse, a través de ensayos de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales que sean específicos del dengue y de los diferentes serotipos (Kuberski and Rosen, 1977).

La detección del ARN viral también se puede realizar en los primeros días de la enfermedad. El método más utilizado es la PCR de transcriptasa inversa (*RT-PCR*) en muestras de sangre, suero o plasma. Este ensayo es rápido, específico y sensible. Existen tanto las pruebas de *RT-PCR* convencional como *RT-PCR* en tiempo real (Fai and Eong, 2012).

La técnica *RT-PCR* convencional se basa en la utilización de cebadores que se unen a regiones conocidas del genoma viral, para evitar de esta forma falsos negativos como consecuencia de mutaciones espontáneas durante la replicación del ARN viral (Gijavanekar et al., 2011). En cambio la *RT-PCR* en tiempo real se basa en la fluorescencia y va a presentar una mayor sensibilidad que la técnica anterior, provocada por la localización del detector de fluorescencia en el termociclador (Yong et al., 2007).

Otra de las técnicas de interés consiste en la amplificación de determinados fragmentos del genoma viral (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification, NASBA*), siendo útil en áreas epidémicas, debido a su alta especificidad y sensibilidad (Compton, 1991).

Otra de las pruebas de laboratorio que se puede realizar al comienzo de la enfermedad es la detección de antígenos.

Esta técnica se basa en la detección de la glicoproteína no estructural NS1, ya que es esencial para el DENV y es secretada por las células infectadas (Winkler et al., 1989). Se encuentra en sangre hasta los 9 días posteriores al inicio de la enfermedad, aunque en casos excepcionales está presente hasta el decimoctavo día (Xu et al., 2006). La gravedad de la enfermedad y la duración de la viremia están relacionados con los niveles de esta proteína en suero o plasma (Libraty et al., 2002).

Esta técnica es más efectiva que la *RT-PCR*, ya que permite confirmar el dengue en muestras negativas para la anterior técnica, así como en infecciones secundarias (Blacksell et al., 2008), pero presenta una mayor sensibilidad para detectar la proteína NS1 en infecciones primarias, debido probablemente a la existencia de anticuerpos anti-NS1 de reacción cruzada en las infecciones secundarias (Young et al., 2000).

En las sospechas de dengue *post mortem* es interesante la detección de los anticuerpos mencionados anteriormente, a través de inmunohistoquímica (Lima et al., 2011).

La prueba más utilizada para el diagnóstico del dengue es la detección de anticuerpos (IgM, IgG). Se puede realizar a través del método *ELISA* o mediante la denominada prueba rápida. (Groen et al, 2000).

Los IgM aparecen entre el tercer y quinto día de la enfermedad, aumentando sus niveles hasta la segunda semana, donde alcanzan su pico más alto y se mantienen en sangre hasta 179 y 139 días después de la infección primaria y secundaria, respectivamente (Prince and Matud, 2011).

La respuesta de estas inmunoglobulinas está presente tanto en los cuatro serotipos del dengue, como en otros flavivirus (Hunsperger et al., 2009). Por lo tanto será necesario conocer la situación epidemiológica de otros flavivirus, para evitar de esta forma falsos positivos, como también ha ocurrido con pacientes previamente infectados por dengue o malaria (Groen et al., 2000).

En cambio las IgG no aparecen en sangre hasta pasados 10 días del inicio de la enfermedad en el caso de infección primaria, y 4 días, en el caso de la infección secundaria (TDR and OMS, 2009).

Otra técnica de diagnóstico es la detección de anticuerpos neutralizantes del dengue. La ventaja que presenta esta prueba es una mayor especificidad, ya que permite diferenciar los anticuerpos que actúan contra el dengue de anticuerpos responsables de la inhibición de otros flavivirus (Russell and Nisalak, 1967).

El método utilizado habitualmente es la Neutralización por Reducción en Placas (*Plaque reduction neutralization test, PRNT*) a pesar del elevado coste económico, humano y bajo rendimiento que presenta. (Putnak et al., 2008). Actualmente se están desarrollando nuevas técnicas para sustituir la PRNT, como la prueba de microneutralización basada en *ELISA*, pero aún se encuentran en fase experimental y requieren mayor tiempo para poder utilizarse de forma habitual (Vorndam and Beltran, 2002).

A modo de resumen se presenta la siguiente tabla, donde se recogen las principales características, ventajas y limitaciones de las técnicas de diagnóstico del dengue (Tabla 2):

**Tabla 2.** Resumen de las diferentes técnicas de diagnóstico del dengue.

	<b>Periodo útil</b>	<b>Métodos</b>	<b>Muestras</b>	<b>Características relevantes</b>	<b>Limitaciones</b>
<b>Aislamiento viral</b>	5 días	Inoculación animal o celular	Sangre Suero Plasma	Único que permite serotiparse	Elevado coste económico y técnico
<b>Detección ARN viral</b>	5 días	PCR de transcriptasa inversa	Sangre Suero Plasma	Evita falsos negativos	Menor sensibilidad
<b>Detección de antígenos</b>	9 días	Kits basados en la detección de NS1	Sangre	Confirma dengue en muestras negativas para PCR	Menor sensibilidad en infecciones secundarias
<b>Detección de anticuerpos</b>	Hasta la 2ª semana	ELISA Prueba rápida	Sangre	Mayor tiempo para su detección en sangre	Falsos positivos
<b>Detección de anticuerpos neutralizantes del dengue</b>	Hasta la 1ª semana	Neutralización por Reducción en Placas	Sangre	Diferencia anticuerpos específicos del dengue	Elevado coste económico, técnico y bajo rendimiento

### 9. Tratamiento

El primer paso es realizar una evaluación general del paciente para determinar si el tipo de atención requerida será ambulatoria u hospitalaria (MS, 2013).

Esta evaluación incluye la historia clínica del paciente, que aportará datos como la fecha de inicio de la fiebre, cantidad de ingesta oral tolerada o cantidad de orina producida. Seguidamente se realizará un examen físico para comprobar el estado mental, de hidratación y hemodinámico, así como la aparición del abdomen blando, erupciones cutáneas o manifestaciones que indiquen sangrado. Por último se iniciaran las pruebas de laboratorio descritas anteriormente, para confirmar el caso sospechoso de dengue, además de pruebas adicionales para determinar valores como la glucemia, albúmina, funcionamiento hepático o urea (OPS, 2015).

El tratamiento se puede iniciar antes de obtener los resultados de estas pruebas de laboratorio, excepto en casos de síntomas atípicos (TDR and OMS, 2009).

Esta evaluación permitirá al personal de atención médica efectuar una clasificación adecuada (Tabla 3):

**Tabla 3.** Clasificación de los casos de dengue para agilizar el tratamiento.

<b>Tipo de paciente</b>	<b>Tratamiento requerido</b>
Sin signos de alarma ni condiciones co-existentes (Grupo A)	Ambulatorio
Sin signos de alarma y con condiciones co-existentes o riesgo social (Grupo B1)	Hospitalario
Con signos de alarma y sin condiciones co-existentes o riesgo social (Grupo B2)	Hospitalario
Con signos de alarma y criterios de dengue grave (Grupo C)	Hospitalario

Los pacientes clasificados en el Grupo A pueden seguir el tratamiento que se le indique en su domicilio, pero debe acudir al centro de salud si aparecen alguno de los signos de alarma descritos a lo largo de los apartados anteriores (MS, 2013).

Las pautas recomendadas para los pacientes englobados en este grupo se exponen a continuación (Tabla 4):

**Tabla 4.** Pautas recomendadas para los pacientes del Grupo A.

<b>GRUPO A</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Reposo domiciliario en cama</b></li><li>• <b>Ingesta oral de líquidos adecuada: administrar caldos, jugos de frutas o sales de rehidratación (no agua solamente)</b></li><li>• <b>Seguimiento médico diario para detectar la posible aparición de signos de alarma desde el descenso de la fiebre hasta las 48 horas posteriores</b></li></ul>

Los niños menores de 6 meses seguirán con la lactancia materna como lo hacen habitualmente, mientras que los mayores de 6 meses mantendrán su alimentación diaria (MS, 2013).

Los pacientes clasificados en el Grupo B1 necesitarán tratamiento hospitalario. Las condiciones co-existentes pueden ser enfermedades hematológicas crónicas, diabetes, tratamiento con anticoagulantes, embarazadas o pacientes que presenten obesidad. Por otro lado el riesgo social puede deberse a diversas situaciones como vivir sólo, lejos del centro hospitalario o en situación de pobreza (Low et al., 2017).

A continuación se expone las pautas recomendadas que se deben seguir para los pacientes que pertenecen a este grupo (Tabla 5):

**Tabla 5.** Pautas recomendadas para los pacientes del Grupo B1.

<b>GRUPO B1</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Si el paciente tolera la ingesta oral de líquidos: misma pauta que en el grupo anterior</b></li><li>• <b>Si el paciente no tolera la ingesta oral de líquidos: administración intravenosa de solución fisiológica (2-3 ml/Kg en adultos; 20-30 ml/Kg <u>vía oral</u> en niños)</b></li><li>• <b>Controlar de forma paralela las otras enfermedades co-existentes</b></li><li>• <b>Hemograma diario</b></li><li>• <b>Seguimiento diario para comprobar su evolución y detectar la posible aparición de signos de alarma</b></li></ul>

El tratamiento de los pacientes englobados en el Grupo B2 tiene que ser hospitalario, ya que la presencia de signos de alarma indica de forma indirecta la presencia de extravasación sanguínea (MS, 2013).

El protocolo que se deberá seguir en los pacientes pertenecientes a este grupo se expone a continuación, indicándose las dosis para adultos (Tabla 6):

**Tabla 6.** Pautas recomendadas para los pacientes del Grupo B2.

<b>GRUPO B2</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Hematocrito previo a la rehidratación intravenosa (si es posible)</b></li><li>• <b>Administración intravenosa de solución fisiológica o ringer lactato: 10 ml/Kg/hora y posterior evaluación</b></li><li>• <b>Si el paciente no mejora: repetir proceso 1 o 2 veces</b></li><li>• <b>Si el paciente mejora: reducir dosis a 5-7 ml/Kg/hora durante 2-4 horas y continuar con 3-5 ml/Kg/hora durante 2-4 horas y finalmente 2-3 ml/Kg/hora las próximas 24-48 horas</b></li><li>• <b>Si se produce una bajada brusca del hematocrito considerar posible hemorragia</b></li><li>• <b>Controlar valores de glucemia, enzimas hepáticas, proteínas totales y albúmina</b></li><li>• <b>Seguimiento diario para comprobar su evolución y la posible aparición de signos de alarma</b></li></ul>

En el caso de los niños, la rehidratación se realizara a través de una solución poli electrolítica o una solución fisiológica, en una dosis de 25 ml/Kg/hora (Low et al., 2017).

El Grupo C engloba a los pacientes con mayor riesgo, ya que además de presentar signos de alarma tienen síntomas característicos del dengue grave. Por lo tanto requerirán tratamiento hospitalario (CDC, 2016).

El protocolo adecuado que se debe seguir en este grupo de pacientes se expone a continuación, indicándose la dosis adecuada para adultos (Tabla 7):

**Tabla 7.** Pautas recomendadas para los pacientes del Grupo C.

<b>GRUPO C</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Hematocrito previo a la rehidratación intravenosa (si es posible)</b></li><li>• <b>Administración intravenosa con cristaloides en una solución isotónica o ringer lactato: 20 ml/Kg cada 15-30 minutos y posterior evaluación</b></li><li>• <b>Si el paciente mejora: reducir dosis a 10 ml/Kg durante una hora, y continuar reduciendo de forma progresiva la dosis de igual forma que en el Grupo B2</b></li><li>• <b>Si el paciente no mejora: repetir proceso y volver a evaluar</b></li><li>• <b>En esta segunda evaluación si se observa una mejora del paciente se reducirá la dosis a 10 ml/Kg durante una hora, y se continuará reduciendo de forma progresiva como en el Grupo B2</b></li><li>• <b>Si se mantiene el empeoramiento administrar coloides en lugar de cristaloides en una dosis de 10-20 ml/Kg en un intervalo de 30-60 minutos y evaluar de nuevo</b></li><li>• <b>Si al evaluar nuevamente al paciente, se observa una mejoría: volver a administrar cristaloides a una dosis 10 ml/kg y seguir reduciendo la dosis según el protocolo del Grupo B2</b></li><li>• <b>Si el paciente no mejora seguir administrando coloides, y plantearse el uso de medicamentos vasoactivos</b></li></ul>

En el caso de niños se realizará una rehidratación con cristaloides, en una dosis de 20 ml/Kg, que se repetirá en caso de no observar mejoría. Si continua sin mejorar se administrará sangre inmediatamente y una mayor dosis de cristaloides (Low et al., 2017).

Todos los pacientes, independientemente del grupo en el que se encuentren, deberán protegerse frente a las picaduras de los mosquitos durante la viremia de la enfermedad. En relación al tratamiento farmacológico no se le podrá administrar antiinflamatorios no

esteroides, excepto paracetamol (Dosis: 500 mg/6 horas en adultos; 10 mg/Kg/día en niños), ni medicamentos por vía intramuscular, ya que podrían favorecer el sangrado. Tampoco se ha observado mejoría con la administración de antibióticos ni corticoides (TDR and OMS, 2009).

#### 10. Profilaxis

Tradicionalmente la prevención de la transmisión y carga de la enfermedad se ha realizado a través de acciones destinadas al control de los vectores. Actualmente esta sigue siendo la estrategia principal, a pesar de la existencia de una vacuna en el mercado y varias en fases preclínicas (Katzelnick et al., 2017).

Las técnicas de control vectorial se basan en ordenar y modificar el medio ambiente para evitar que los mosquitos puedan depositar sus huevos en lugares adecuados para la cría. Para evitar la ovoposición se deben vaciar y limpiar semanalmente los recipientes que puedan presentar agua o instalar una malla que permita la recogida del agua pero no la entrada del mosquito (OMS, 2019).

Otra de las técnicas utilizadas para la prevención consiste en eliminar los desechos sólidos y los recipientes artificiales que se encuentren en desuso. En el caso de que la gestión ambiental no se pueda realizar en algunos de estos recipientes se aplicarán insecticidas, al igual que durante los brotes epidémicos se rociarán insecticidas de forma terrestre o con aeronaves. Pero estas técnicas de control químico se tienen que aplicar de forma repetida, por lo que puede ocasionar amplias resistencias por parte de los mosquitos (Guzmán and Harris, 2015).

También existen medidas a nivel personal para evitar la picadura del mosquito, como usar ropa de manga larga, repelentes, mosquiteras en las puertas o ventanas y materiales del hogar tratados con insecticidas. Además la comunidad puede participar activamente en las medidas de control vectorial, demostrándose una disminución de la transmisión y carga de la enfermedad cuando dichas medidas se llevan a cabo (Pang et al., 2017).

Actualmente se están empezando a utilizar técnicas basadas en la biología. Una de ellas consiste en el uso de organismos acuáticos que se alimentan de las especies de *Aedes*. Entre ellos se encuentran crustáceos pequeños o peces larvivoros. Un método desarrollado recientemente son los ensayos de mosquitos que se modifican genéticamente, alterando un gen letal que garantiza la esterilidad de estos tras su apareamiento con otros mosquitos silvestres (Guzmán and Harris, 2015). Otra de las técnicas empleadas en la actualidad se basa en la infección de

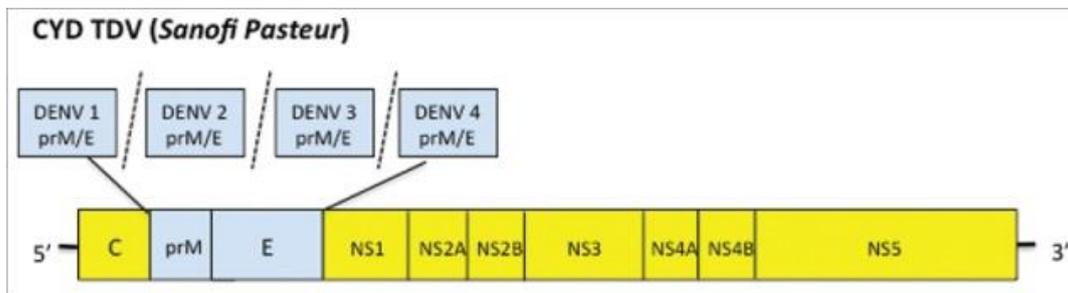
mosquitos con la cepa *wMel* de la bacteria *Wolbachia pipientis* que reduce la vida del mosquito y por lo tanto la transmisión de la enfermedad (Pang et al., 2017).

Por otro lado, se están realizando ensayos clínicos sobre posibles vacunas candidatas. Las mejores colocadas son las vacunas tetravalentes, ya que actuarían sobre los cuatro serotipos con interés epidemiológico, pero hasta el momento no actúan de forma equilibrada sobre ellos. También se trabaja en vacunas de virus vivos atenuados o inactivados, de proteínas recombinantes o de ADN (Guzmán and Harris, 2015).

La única vacuna con licencia para su comercialización es *Dengvaxia*<sup>®</sup> *CYD-TDV*, elaborada por *Sanofi Pasteur*. Es una vacuna tetravalente quimérica, recombinante y atenuada, utilizada tanto para el dengue como para la fiebre amarilla. La efectividad varía según el serotipo, siendo más eficaz frente a DENV-3 y DENV-4, y también en función de la edad (Katzelnick et al., 2017).

Su estructura se basa en el esqueleto de la vacuna contra la fiebre amarilla 17D, y está compuesta por 4 vacunas quiméricas, recombinantes y atenuadas. Cada una de ellas expresa los genes prM y de envoltura de los diferentes serotipos del virus del dengue (Torresi et al., 2017).

La vacuna está formada por las proteínas prM / E de los 4 serotipos de interés epidemiológico del virus y de las proteínas no estructurales, así como por la cápsida del virus atenuado de la fiebre amarilla (Figura 15) (Torresi et al., 2017).



**Figura 15.** Estructura de la vacuna Dengvaxia<sup>®</sup> CYD-TDV contra el virus del dengue (Torresi et al., 2017).

Actualmente se administra en 20 países endémicos a personas con un rango de edad de 9 a 45 años. Solamente está recomendado su uso en pacientes que ya han sido infectados en otra ocasión por el virus (sujetos seropositivos), previniendo de esta forma una reinfección. Esta recomendación se debe a que en los estudios post-comercialización se observó una mayor probabilidad de contraer dengue grave en las personas infectadas por primera vez tras la administración de la vacuna (sujetos seronegativos), que en las personas infectadas por primera

vez y no vacunadas. Por este motivo se debe realizar un estudio serológico previo a la administración de la misma (OMS, 2019).

### 11. Perspectivas futuras

La incidencia del dengue ha experimentado un gran aumento en los últimos 50 años, alcanzando áreas dónde hasta ahora era una enfermedad desconocida (Heilman et al., 2014).

Por este motivo continúan las investigaciones para desarrollar nuevas vacunas, que permitan actuar de forma equilibrada frente a los cuatro serotipos. Además se sigue avanzando en nuevos métodos de control vectorial, ya que los tradicionales no han demostrado la efectividad esperada (TDR and OMS, 2009).

Otro ámbito en el que se están realizando grandes esfuerzos es sobre los medicamentos antivirales, ya que serían de gran utilidad tanto para tratar el periodo febril como para evitar la progresión al dengue grave (Heilman et al., 2014).

Se espera conseguir nuevos avances tras la identificación de la estructura de las proteínas virales. Además se han planteado varias estrategias a seguir como utilizar análogos de nucleósidos para inhibir la polimerasa de ARN dependiente del ARN vírico, inhibidores específicos de la proteasa viral o de entrada para evitar la penetración del virus en la célula (Sampath and Padmanabhan, 2009).

Para alcanzar todos estos objetivos y reducir la carga de la enfermedad es necesario la implicación de todas las partes involucradas, desde la sociedad científica hasta la política, y así poder seguir avanzando en la prevención, diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad que actualmente afecta a una gran parte de la población mundial (OMS, 2019).

## CONCLUSIONES

Las principales conclusiones extraídas en el presente trabajo tras la elaboración de la revisión son las siguientes:

- El virus del dengue ha pasado de ser una amenaza en los países tropicales a afectar de forma general a todos los continentes, estando la mitad de la población mundial en riesgo de contraer la enfermedad.
- La transmisión del virus se ha visto aumentada de forma significativa en los últimos años debido a la amplia distribución de los vectores *Aedes aegypti* y *A. albopictus*. Este aumento en la densidad de estos mosquitos se ha producido por su adaptación a climas templados, como consecuencia del cambio climático. En España, se han diagnosticado recientemente 6 casos autóctonos de dengue y se estima que, debido a la presencia del vector *A. albopictus* en nuestro país, es posible la aparición de más casos en el futuro.
- Existen 5 serotipos diferentes del virus, DENV-1, 2, 3, 4 y 5. Aunque todos ellos pueden producir la enfermedad, los serotipos DENV-2 y DENV-3 son los que se asocian a los casos más graves, mientras que DENV-1 ha sido el responsable de los casos autóctonos que se han dado en España. Además, dentro de los serotipos 1 a 4, existen a su vez diferentes genotipos que poseen distinta distribución geográfica.
- El inicio de la enfermedad se caracteriza por síntomas similares a un cuadro gripal, aunque puede evolucionar a la forma grave que presenta una alta tasa de mortalidad. Hasta el momento no existe un diagnóstico diferencial, por lo que se debe continuar investigando en este campo hasta que sea posible identificar a los pacientes de forma temprana y así evitar su evolución a la forma grave.
- La ausencia de un tratamiento antiviral específico dificulta el control del virus, ya que éste sigue extendiéndose y causando numerosos brotes, principalmente, en el continente americano y asiático. Actualmente existen numerosos ensayos para identificar moléculas que actúen inhibiendo el ciclo de replicación viral y la invasión celular.
- Respecto a la profilaxis de la enfermedad, sólo existe una vacuna tetravalente quimérica, recombinante y atenuada, obtenida mediante tecnología del ADN recombinante. Sin embargo, esta vacuna, comercializada con el nombre *Dengvaxia*<sup>®</sup> *CYD-TDV*, no es segura y sólo está recomendada para ciertos casos y edades. Por ello, actualmente se siguen realizando investigaciones para desarrollar nuevas vacunas que sean seguras y válidas para todas las edades.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Adhami J, Reiter P. Introduction and establishment of *Aedes (Stegomyia) albopictus skuse (Diptera: Culicidae)* in Albania. *J Am Mosq Control Assoc.* 1998; 14 (3): 340–3.
- Amarilla AA, De Almeida FT, Jorge D.M, Alfonso HL, De Castro-Jorge LA, Nogueira NA et al. Genetic diversity of the E protein of dengue type 3 virus. *Virology.* 2009; 6:113.
- Aranda C, Eritja R, Roiz D. First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Med Vet Entomol.* 2006; 20 (1): 150–2.
- Aranda C, Martínez MJ, Montalvo T, Eritja R, Navero-Castillejos J, Herreros E et al. Arbovirus surveillance: first dengue virus detection in local *Aedes albopictus* mosquitoes in Europe, Catalonia, Spain, 2015. *Euro Surveill.* 2018; 23(47): 1700837.
- Bandyopadhyay S, Lum LC, Kroeger A. Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever. *TM & IH* 2006; 11(8): 1238-55.
- Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 2013; 496: 504–7.
- Blacksell SD, Mammen MP Jr, Thongpaseuth S, Gibbons RV, Jarman RG, Jenjaroen K et al. Evaluation of the Panbio dengue virus nonstructural 1 antigen detection and immunoglobulin M antibody enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of acute dengue infections in Laos. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 60 (1): 43-9.
- Campagna Dde S, Miagostovich MP, Siqueira MM, Cunha RV. Etiology of exanthema in children in a dengue endemic area. *J Pediatr.* 2006; 82(5): 354-8.
- Cao XT, Ngo TN, Wills B, Kneen R, Nguyen TT, Ta TT et al. Evaluation of the World Health Organization standard tourniquet test and a modified tourniquet test in the diagnosis of dengue infection in Viet Nam. *TM & IH.* 2002; 7(2): 125-32.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/transmission/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. Manejo de casos de dengue. 2016. [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: [https://www.cdc.gov/dengue/resources/14\\_243318-B\\_Seda-DENGUE-Flyers\\_508.pdf](https://www.cdc.gov/dengue/resources/14_243318-B_Seda-DENGUE-Flyers_508.pdf)
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Hoja de datos sobre el dengue. 2015 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/enfermedades/dengue/hojados.htm>

- Chuang Y, Wang S, Lin Y, Chen H, Yeh T. Re-evaluation of the pathogenic roles of nonstructural protein 1 and its antibodies during dengue virus infection. *J Biomed Sci.* 2013; 20: 42.
- Colbert JA, Gordon A, Roxelin R, Silva S, Silva J, Rocha C et al. Ultrasound measurement of gallbladder wall thickening as a diagnostic test and prognostic indicator for severe dengue in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J.* 2007; 26(9): 850-2.
- Collantes F, Delgado JA, Alarcón-Elbal PM, Delacour S, Lucientes J. First confirmed outdoor winter reproductive activity of Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Europe. *An Biol.* 2014; 36: 71-6.
- Compton J. Nucleic acid sequence-based amplification. *Nature* 1991; 350: 91–2.
- Dewi BE, Takasaki T, Tajima S, Sudiro TM, Larasati RP, Corwin AL et al. Genotypic and phenotypic characteristic of DENV-3 isolated from patients with different disease severities in Indonesia. *Dengue Bulletin* 2009; 33: 45-58.
- Eritja R, Escosa R, Lucientes J, Marqués E, Molina R, Roiz D et al. Worldwide invasion of vector mosquitoes: present European distribution and challenges for Spain. *Biol Invasions.* 2005; 7: 87-9.
- Faheem M, Raheel U, Riaz M.N, Kanwal N, Javed F, Sahar S et al. A molecular evaluation of dengue virus pathogenesis and its latest vaccine strategies. *Mol Biol Rep.* 2011; 38(6): 3731-40.
- Fai k, Eong E. Diagnosis of dengue: an update. 2012 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible\_en:<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/eri.12.76?src=recsys>
- Gijavanekar C, Añez-Lingerfelt M, Feng C, Putonti C, Fox GE, Sabo A et al. PCR detection of nearly any dengue virus strain using a highly sensitive primer ‘cocktail’. *FEBS J.* 2011; 278 (10): 1676–87.
- Gjenero-Margan I, Aleraj B, Krajcar D, Lesnikar V, Klobučar A, Pem-Novosel I et al. Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010. *Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull.* 2011; 16 (9).
- Groen J, Koraka P, Velzing J, Copra C, Osterhaus AD. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue virus-specific immunoglobulin M and G antibodies. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000; 7 (6): 867–71.
- Gubler DJ, Kuno G, Sather GE, Velez M, Oliver A. Mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg.* 1984; 33(1): 158–65.

- Guzmán M , Halstead S , Artsob H , Buchy P , Farrar J , Gubler D et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(12): 7–16.
- Guzmán M, Harris E. Dengue. *Lancet* 2015; 385: 453–65.
- Heilman J, De Wolff J, Beards G, Basden B. Dengue fever: a Wikipedia clinical review. *Open Med.* 2014; 8(4): 105–15.
- Holmes EC. Molecular epidemiology and evolution of emerging infectious diseases. *Brit Med Bull.* 1998; 54: 533–43.
- Horstick O, Martinez E, Guzman MG, Martin JLS, Ranzinger SR. WHO Dengue Case Classification 2009 and its usefulness in practice: an expert consensus in the Americas. *Pathog Glob Health.* 2015; 109(1): 19-25.
- Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria DA et al. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15 (3): 436-40.
- Islam R, Salahuddin M, Ayubi MS, Hossain T, Majumder A, Taylor-Robinson AW et al. Dengue epidemiology and pathogenesis: images of the future viewed through a mirror of the past. *Virologica Sinica.* 2015; 30(5): 326-43.
- Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S, Green S, Suntayakorn S, Kunentrasai N et al. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *J Infect Dis.* 1997; 176(2): 313-21.
- Kantor I. Dengue, Zika, Chikungunya y el desarrollo de vacunas. Universidad de Buenos Aires. 2016 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <https://www.medicinabuenosaires.com/indices-de-2010-a-2018/volumen-78-ano-2018-no-1-indice/dengue-zika-chikungunya-y-el-desarrollo-de-vacunas/>
- Katzelnick L, Coloma J, Harris E. Dengue: knowledge gaps, unmet needs, and research priorities. *Lancet Infect Dis* 2017; 17: 88–100.
- Kautner I, Robinson MJ, Kuhnle U. Dengue virus infection: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and prevention. *J Pediatr.* 1997; 131(4): 516-24.
- Kuberski T, Rosen LA simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg.* 1977; 26(3): 533–7.
- Kuhn R.J, Zhang W, Rossmann M.G, Pletnev S.V, Corver J, Lenches E et al. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 2010; 8(5): 717-25.

- Kurosu T, Chaichana-Yamate M, Anantapreecha S, Ikuta K. Secreted complement regulatory protein clusterin interacts with dengue virus nonstructural protein 1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 362: 1051-6.
- La Ruche G, Souarès Y, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Delaunay P, Leparç Goffart I et al. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Euro Surveill.* 2010; 15: 19676.
- Lambrechts L, Chevillon C, Albright G, Thaisomboonsuk B, Richardson JH, Jarman R.G et al. Genetic specificity and potential for local adaptation between dengue viruses and mosquito vectors. *BMC Evol Biol* 2009; 9: 160.
- Lateef A, Fisher DA, Tambyah PA. Dengue and relative bradycardia. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(4): 650.
- Liang G, Gao X, Gould EA. Factors responsible for the emergence of arboviruses; strategies, challenges and limitations for their control. *Emerg Microbes Infect.* 2015; 4: 18.
- Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S et al. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis.* 2002; 186 (8): 1165-8.
- Lima MDA R, Nogueira RM, Schatzmayr HG, de Pilippis AM. A new approach to dengue fatal cases diagnosis: NS1 antigen capture in tissues. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5 (5): 1147.
- Lindenbach B, Thiel H, Rice C. Flavivirus: The virus and their replication. *Fields Virology* 2007; 2: 1101-52.
- Lovera D, Araya S, Mesquita M.J, Avalos C, Ledesma S, Arbo A. Prospective applicability study of the new dengue classification system for clinical management in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2014; 33(9): 933-5.
- Low J, Eong E, Vasudevan S. Current status of dengue therapeutics research and development. *J Infect Dis.* 2017; 215 (Suppl 2): 96–102.
- Martina B.E, Koraka P, Osterhaus AD. Dengue virus pathogenesis: an integrated view. *Clin Microbiol Rev.* 2009; 4: 564-81.
- Martínez E, Polanco AC, Pleites EB. ¿Por qué y cómo mueren los niños con dengue? *Rev Cubana Med Trop* 2008; 60(1): 40-7.
- Medlock M, Vaux GC. Colonization of a newly constructed urban wetland by mosquitoes in England: implications for nuisance and vector species. *J Vector Ecol* 2014; 39 (2): 249–60.

- Meiklejohn G, England B, Lennette EH. Propagation of dengue virus strains in unweaned mice. *Am J Trop Med Hyg.* 1952; 1(1): 51–8.
- Méndez Á, González G. Dengue hemorrágico en niños: diez años de experiencia clínica. *Biomédica.* 2003; 23(2): 180-93.
- Ministerio de Salud. Diagnóstico de Dengue: Guía para el equipo de salud. 4ª ed. 2015 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/000000062cnt-guia-dengue-2016.pdf>
- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Evaluación del riesgo de introducción y circulación del virus del dengue en España. 2013 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <https://higieneambiental.com/control-de-plagas/evaluacion-riesgo-introduccion-circulacion-dengue-espana>
- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Plan nacional de preparación y respuesta frente a enfermedades transmitidas por vectores. Parte I: Dengue, Chikungunya y Zika. 2016 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: [https://www.msrebs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/DocsZika/Plan\\_Nac\\_enf\\_vectores\\_20160720\\_sin\\_CC.pdf](https://www.msrebs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/DocsZika/Plan_Nac_enf_vectores_20160720_sin_CC.pdf)
- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Primeros casos de dengue autóctono en España. 2018 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: [https://www.msrebs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/ERR\\_Dengue\\_autoctono\\_Espana.pdf](https://www.msrebs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/ERR_Dengue_autoctono_Espana.pdf)
- Montes de Oca M, Martín P, Monsalvo M, Ruiz E. Infecciones víricas endémicas: dengue, fiebre del Nilo, otras. *Medicine* 2014; 11 (50): 2965-72.
- Murphy B, Whitehead S. Immune response to dengue virus and prospects for a vaccine. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 587-619.
- Mustafa M.S, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Med J Armed Forces India.* 2015; 71(1): 67–70.
- Narvaez F, Gutierrez G, Pérez A, Elizondo D, Nuñez A, Balmaseda A et al. Evaluation of the traditional and revised WHO classifications of dengue disease severity. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(11): 1397.
- Nukui Y, Tajima S, Kotaki A, Ito M, Takasaki T, Koike K et al. Novel dengue virus type 1 from travelers to Yap State, Micronesia. *Emerg Infect Dis.* 2006; 2: 343-6.

- Olivares R. Dengue, chronicle of an announced epidemic: introduction and epidemiology (I). *Medwave* 2002; 2(8): 2512.
- Oliveira ÉCLd, Pontes ERJC, Cunha RVd, Fróes ÍB, Nascimento Dd. Alterações hematológicas em pacientes com dengue. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009; 42(6): 682-5.
- Organización Mundial de la Salud y Programa Especial para Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. 2009 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: [https://www.who.int/topics/dengue/9789995479213\\_spa.pdf](https://www.who.int/topics/dengue/9789995479213_spa.pdf)
- Organización Mundial de la Salud. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2ª ed. WHO Press, Geneva. 1997 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/csr/resources/publications/dengue/Denguepublication/en/>
- Organización Mundial de la Salud. Dengue y dengue grave. 2019 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Organización Panamericana de la Salud. Dengue: guías para la atención de enfermos en la Región de las Américas. 2ª Ed. 2015 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/28232>
- Pang, Mak T, Gubler D. Prevention and control of dengue—the light at the end of the tunnel. *Lancet Infect Dis* 2017; 17: 79–87.
- Potts JA, Rothman AL. Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations. *Trop Med Int Health* 2008; 13(11): 1328-40.
- Prince HE, Matud JL. Estimation of dengue virus IgM persistence using regression analysis. *Clin. Vaccine Immunol*. 2011; 18 (12): 2183–85.
- Putnak JR, De la Barrera R, Burgess T, Pardo J, Dessy F, Gheysen D et al. Comparative evaluation of three assays for measurement of dengue virus neutralizing antibodies. *Am J Trop Med Hyg*. 2008; 79 (1): 115-22.
- Quintero D, Osorio J, Martínez M. Competencia vectorial: consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del dengue. *Iatreia* 2009; 23(2): 146-56.
- Rigau-Pérez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1998; 352(9132): 971-7.

- Rosso F, Pineda JC, Sanz AM, Cedano JA, Caicedo LA. Transmission of dengue virus from deceased donors to solid organ transplant recipients: case report and literature review. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis*. 2018; 22 (1): 63-9.
- Russell PK, Nisalak A. Dengue virus identification by the plaque reduction neutralization test. *J. Immunol*. 1967; 99 (2): 291–6.
- Salazar M.I. Dengue: la infección y la respuesta inmune.1ª ed. ResearchGate. 2009 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/200763420\\_Dengue\\_la\\_infeccion\\_y\\_la\\_respuesta\\_inmune](https://www.researchgate.net/publication/200763420_Dengue_la_infeccion_y_la_respuesta_inmune)
- Sampath A, Padmanabhan R. Molecular targets for flavivirus drug discovery. *Antiviral Res*. 2009; 81(1): 6–15.
- Shu P.Y, Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immuna* 2004; 2 (4): 642-50.
- Simmons CP, Farrar JJ, Nguyen vV, Wills B. Dengue. *N Engl J Med*. 2012; 366(15):1423-32.
- Simon A, Sutherland M, Pryzdial E. Dengue virus binding and replication by platelets. *Blood*. 2015; 126 (3): 378-85.
- Srichaikul T, Nimmannitya S. Haematology in dengue and dengue haemorrhagic fever. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2000; 13(2): 261-76.
- Srikiatkachorn A, Krautrachue A, Ratanaprakarn W, Wongtapradit L, Nithipanya N, Kalayanarooj S, et al. Natural history of plasma leakage in dengue hemorrhagic fever: a serial ultrasonographic study *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26(4): 283-90.
- Srikiatkachorn A, Rothman A.L, Gibbons R.V, Sittisombut N, Malasit P, Ennis F.A, et al. Dengue—how best to classify it. *Clin Infect Dis*. 2011; 53(6): 563-7.
- Srivastava A. Dengue fever rash: white islands in a sea of red. *Int J Dermatol*. 2017; 56(8): 873-4.
- Tanner L, Schreiber M, Low JG, Ong A, Tolfvenstam T, Lai Y et al. Decision tree algorithms predict the diagnosis and outcome of dengue fever in the early phase of illness. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008; 2(3): 196.
- Tittarelli E. Estudio genético de los virus dengue circulantes en los últimos años en Argentina. Universidad de Buenos Aires. 2017 [en línea]. [Consultado en Agosto 2019]. Disponible en: [http://repositorioubasibi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA\\_1913.dir/1913.PDF](http://repositorioubasibi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA_1913.dir/1913.PDF)

- Torresi J, Ebert G, Pellegrinib M. Vaccines licensed and in clinical trials for the prevention of dengue. *Hum Vaccin Immunother.* 2017; 13 (5): 1059–72.
- Vasilakis N, Cardoso J, Hanley KA, Holmes EC, Weaver SC. Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. *Nat Rev Microbiol.* 2011; 9: 532–41.
- Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis.* 2000; 181(1): 2-9.
- Velandia M, Castellanos J. Dengue virus: structure and viral cycle. *Infectio.* 2011; 15(1): 33-43.
- Vorndam V, Beltran M. Enzyme-linked immunosorbent assay-format microneutralization test for dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; 66(2): 208–12.
- Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* 2010; 85: 328–45.
- Wilder-Smith A, Quam M, Sessions O, Rocklov J, Liu-Helmersson J, Franco L et al. The 2012 dengue outbreak in Madeira: exploring the origins. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull.* 2014; 19 (8): 20718.
- Winkler G, Maxwell SE, Rueemler C, Stollar V. Newly synthesized dengue-2 virus nonstructural protein NS1 is a soluble protein but becomes partially hydrophobic and membrane-associated after dimerization. *Virology* 1989; 171 (1): 302–5.
- Xu H, Di B, Pan YX, Qiu LW, Wang YD, Hao W et al. Serotype 1-specific monoclonal antibody-based antigen capture immunoassay for detection of circulating nonstructural protein NS1: Implications for early diagnosis and serotyping of dengue virus infections. *J Clin Microbiol.* 2006; 44 (8): 2872-8.
- Yip WCL. Dengue haemorrhagic fever: Current approaches to management. *Medical Progress.* 1980; 7(13): 201–9.
- Yong YK, Thayan R, Chong HT, Tan CT, Sekaran SD. Rapid detection and serotyping of dengue virus by multiplex RT-PCR and real-time SYBR green RT-PCR. *S M J.* 2007; 48 (7): 662–8.
- Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzymelinked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol.* 2000; 38 (3): 1053–7.