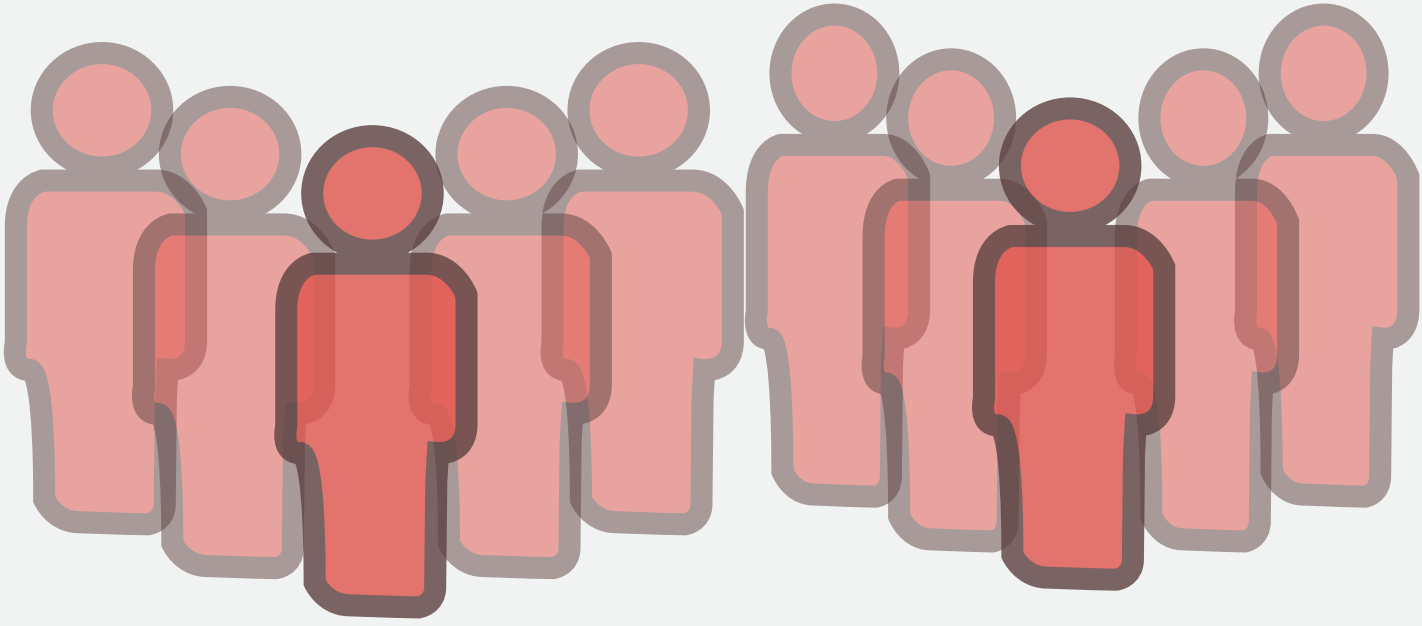
ISSN: 2310-5313

REVISTA

PARAGUAYA DE EPIDEMIOLOGÍA

Volumen 4 | Número 2 | Diciembre 2017



DGVS Paraguay

TESÁI HA TEKO PORÃVE Motenondeha
Ministerio de SALUD PÚBLICA Y BIENESTAR SOCIAL

TETÃ REKUÁI
GOBIERNO NACIONAL

Paraguái tetãyguára mba'e

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

CUERPO EDITORIAL

EDITOR JEFE:

- DRA. MARÍA ÁGUEDA CABELLO

EDITORES ADJUNTOS:

- DRA. MALVINA PÁEZ
- DRA. ESTHER PEDROZO
- DRA. ROSA GALEANO

MIEMBROS DEL COMITÉ EDITORIAL:

- DRA. MARGARITA VILLAFAÑE
- DRA. FELICIA CAÑETE
- DRA. SANDRA IRALA
- DRA. ANDREA OJEDA
- DRA. MARTHA VON HOROCH
- DRA. SIXTA BOGADO

REVISORES NACIONALES:

- DRA. ANTONIETA DE ARIAS
- DRA. SONIA ARZA
- DRA. MARTA ASCURRA
- LIC. BLANCA COUSIÑO
- DRA. MARGARITA SAMUDIO
- DRA. MARIA ENILDA VEGA

REVISORES INTERNACIONALES:

- DR. MIGUEL ARAGÓN
- DRA. ELENA PEDRONI
- DRA. MARIANA MANSUR
- DR. AUGUSTO LÓPEZ
- DR. LUIS FUERTES
- DR. ENRIQUE VÁZQUEZ
- DR. JONAS BRANT

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

SUMARIO

Volumen 4 - Número 2

EDITORIAL

01 **Editorial**
M. Páez

ORIGINALES

05 **Intoxicación ocupacional con gas fosfina en planta de procesamiento de granos, Paraguay - 2014**
S. Ocampos, E. Pedrozo, R. Galeano, M. Páez, D. Assis y A. Cabello

11 **Vigilancia virológica de Influenza y otros virus respiratorios durante el periodo post-pandémico 2010-2011 en Paraguay**
C. Vazquez, MI. Gamarra, S. Villalba, MI. Bobadilla, MJ. Ortega, A. Oviedo, C. Arellano, W. Paredes, E. Oviedo, S. Figueredo, L. Ramírez, J. Torales, H. Fariña y A. Cabello

17 **Vigilancia de la salud durante la visita del Papa Francisco: Resultados de la implementación del sistema de vigilancia activa en eventos masivos - Paraguay - 2015**
A. Cabello, P. Lima, D. Ramirez, M. Villafañe, R. Galeano, J. Sánchez, B. Cousiño, D. Recalde, A. Ramírez, P. Luraschi, A. Ferloni, B. Martínez y A. Ojeda.

25 **Carga de Influenza asociadas a hospitalizaciones y muertes en Paraguay, 2011-2015**
S. Bataglia, M. Von Horoch, A. Cabello, E. Penayo y C. Vázquez.

34 **Caracterización molecular de virus dengue aislados de pacientes con diferentes manifestaciones clínicas durante la epidemia de dengue del año 2007 en Paraguay**.
C. Vazquez, N. Coluchi, V. Stella, C. Probst, C. Candia, y C. Duarte dos Santos

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Original

Editorial

Páez M.[1]

[1] Dirección General de Vigilancia de la Salud. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Asunción-Paraguay

Nos complace presentar el segundo número de la Revista de Epidemiología, con artículos originales muy relevantes.

Quizás lo más llamativo de la presente edición es la presentación de un original trabajo sobre los resultados de la vigilancia de un evento masivo considerando la venida del Papa Francisco al país, que aglutino a un número importante de personas. La incorporación del uso de dispositivos móviles a la vigilancia de salud agilizó la carga de datos desde el lugar de ocurrencia del evento. La vigilancia activa a la organización de la vigilancia rutinaria durante un evento masivo permitió contar con fuentes adicionales para la detección de eventos de importancia en salud pública.

La conclusión de los autores apunta a que el trabajo integrado con las regiones sanitarias, la seguridad social y el sector privado, desde un centro de información epidemiológica permitió agilizar la captura de datos y garantizar la calidad de la información difundida a los tomadores de decisiones.

Una contribución importante de los autores se refiere al estudio relacionado con el envenenamiento accidental-ocupacional con fosfina, gas utilizado como fumigante para el almacenamiento de granos y potencialmente fatal, teniendo como vías de entrada el inhalatorio y la mucocutánea. Como resultado del estudio se recomendó la implementación de normas para la fumigación segura, capacitación para el personal y un plan de monitoreo por autoridades competentes.

Otro artículo de este número trata sobre la carga de influenza asociada a hospitalizaciones y muertes en el país, el cual concluyó que los niños menores de cinco años y adultos mayores fueron los más comúnmente hospitalizados debido a una infección de influenza; y los adultos mayores con mayor frecuencia murieron a causa de la gripe. En otro apartado donde también se refiere a Influenza, se reportan las características y el comportamiento de los virus influenza y otros virus respiratorios que circularon en el Paraguay en el periodo post-pandémico 2010-2011
Finalmente, la presente edición cuenta con un artículo que trata sobre el aislamiento e identificación de un serotipo diferente de Dengue en una población susceptible lo que representa una amenaza para la ocurrencia de formas severas de la enfermedad.

Queremos agradecer a los revisores que se tomaron el trabajo de evaluar con rigor e imparcialidad los trabajos enviados a la revista. Sin su colaboración sería imposible la realización y continuidad de la Revista de Epidemiología.

Autor para correspondencia:
Dra. Malvina Páez.Dirección General de
Vigilancia de la Salud. Asunción.
Correo electrónico: paezmalvina@yahoo.es

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Original

Intoxicación ocupacional con gas fosfina en planta de procesamiento de granos, Paraguay - 2014.

Ocampos S.[1], Pedrozo M.E.[1], Galeano R.[1], Páez M.[1], Assis D. [2], Cabello A.[1]

RESUMEN

La fosfina es un gas utilizado como fumigante para el almacenamiento de granos. El envenenamiento por este gas es potencialmente fatal. En abril de 2014, el Centro Nacional de Toxicología de Paraguay (CNTox-PY) recibió a 16 trabajadores de una planta de procesamiento de granos con sospecha de envenenamiento por fosfina. Estudio transversal con revisión de historial médico, entrevistas y búsqueda activa de campo. Se administró un cuestionario a los trabajadores de la planta. Los datos fueron analizados con Epi Info 7. Se calculó RR con un IC del 95% para una p≤0,05. La compañía tenía 28 empleados, sexo femenino 71,4%, edad media 26,5 años (±6,53); 85% (24/28) tenían síntomas, 20/24 sexo femenino, 18/24 buscaron asistencia médica, 16/18 fueron a CNTox-PY. Los síntomas principalmente fueron cefalea 50%, lesiones oculares 92%. El lugar no era hermético; el personal no cualificado realizó pulverizaciones y no se respetó el tiempo de ventilación posterior.El tipo de envenenamiento fue accidental-ocupacional, teniendo como vías de entrada el inhalatorio y la muco-cutánea. Se recomendó la implementación de normas para la fumigación segura, capacitación para el personal y un plan de monitoreo por parte de las autoridades competentes.

Palabras claves: fosfuro de aluminio, fosfina, envenenamiento, vómitos, cefalea, dolor ocular, lesiones oculares, Paraguay.

ABSTRACT

Occupational phosphine gas poisoning in grain processing plant, Paraguay - 2014.

Phosphine is a gas used as a fumigant for grain storage. Poisoning by this gas is potentially fatal. In April 2014, the National Center for Toxicology of Paraguay (CNTox-PY) received 16 workers at a grain processing plant suspected of phosphine poisoning. Cross-sectional study with review of medical history, interviews and active field search. A questionnaire was administered to the plant workers. Data analyzed with Epi Info 7. RR where calculated with a 95%IC for a p≤0.05d. The company had 28 employees, 71.4% female, median age 26.5 year old (±6.53); 85% (n = 24) had symptoms, 20/24 female, 18/24 sought medical assistance, 16/18 went to CNTox-PY. The frequency of symptoms were 50% headache, 13% diarrhea, 13% vomiting, 13% abdominal pain and 92% ocular lesions (71% blurred vision, 63% ocular burning, 42% eye pain). The place was not airtight; unskilled staff carried out spraying and it was not respected the time of subsequent ventilation. The type of poisoning was accidental/occupational, having as entry routes inhalation and muco-cutaneous. Recommended implementing regulations for the safe spraying and training for the staff and a plan for monitoring by competent authorities.

Keywords: Aluminum phosphide, phosphine, poisoning, vomiting, headache, eye pain, eye injuries, Paraguay.

Autor para correspondencia:
Dra. María Águeda Cabello. Dirección General de Vigilancia de la Salud
Correo electrónico: aguedacabello@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La intoxicación por plaguicidas ya sea de tipo accidental, suicida u ocupacional es un problema de salud mundial. El Código Internacional de Conducta Sobre la Distribución y Uso de Plaguicidas de la Food and Agriculture Organization de las Naciones Unidas establece que un plaguicida "es la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas"[1].

El fosfuro de aluminio (AlP), es un insecticida (gorgojicida-rodenticida) de presentación sólida (pastillas) generador de gas fosfina o fosfamina (H3P) un plaguicida de bajo costo y alta toxicidad. El AlP a temperatura de 20 ºC y a una humedad de 60% libera fosfina en un 40% en las primeras 24 horas y en un 75% a las 48 horas. La dosis letal 50 (DL50) para el hombre es de 20 mg/kg y su concentración máxima tolerable (CMT) para 8 hs. de trabajo es de 0,1 cm3/m3. La OMS clasifica los pesticidas en base a la toxicidad aguda del producto en estudios con animales y se subdivide en colores donde el rojo se clasifica como “muy tóxico/tóxico”, el amarillo es clasificado como “nocivo”, el azul y el verde como “cuidado” [2]. El AlP es un producto de categoría toxicológica I (uno) banda roja.

En Paraguay, el Centro Nacional de Toxicología (CNTox) registró entre los años 2011-2012 la atención de 2143 personas, el 25% (527) fueron intoxicaciones con plaguicidas, 145 intoxicaciones registradas en el lugar de trabajo, el 61% (1303) en edades de 15 a 49 años. En cuanto procedencia de los casos; Asunción (capital del país) y el departamento Central registraron el 79% de ellos; del total de casos fallecieron ocho personas, tres de ellas por plaguicidas, uno de ellos usando el AlP de manera intencional[3].

El día 2 de abril la Dirección General de Vigilancia de la Salud (DGVS) recibió la información por parte del CNTox de posibles casos de intoxicación aguda al plaguicida fosfuro de aluminio, en un grupo de trabajadores de un depósito de granos, ubicado en un distrito del departamento Central. Basados en los antecedentes, el equipo de epidemiología de campo tuvo como objetivos describir los casos de intoxicación por fosfuro de aluminio, identificar factores de riesgo asociados a la intoxicación y proponer recomendaciones de prevención y control. En este trabajo informamos los resultados a partir de la investigación realizada.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo de corte trasversal, entre los días 2 al 11 de abril del 2014, en el distrito de Mariano Roque Alonso del departamento Central.

Los datos fueron recogidos a partir de las fichas de notificación de intoxicaciones, las historias clínicas de los pacientes internados en el Centro de Emergencias Médicas (CEM); entrevistas con el médico toxicólogo de guardia, con el encargado del personal de la empresa y con la aplicación de un cuestionario estructurado a todos los trabajadores de la planta.

Trabajo de campo

Se realizó una búsqueda activa (BA) de más casos posibles, utilizando un cuestionario estructurado, el cual contaba con variables demográficas de sexo, edad, procedencia; sintomatología presentada, fecha y hora de inicio de los síntomas; variables de exposición como días trabajados, horas trabajadas, lugar de trabajo y función laboral; utilización de indumentaria de protección personal como uniforme, gafas, tapabocas.

Para la BA se utilizaron las siguientes definiciones de caso:

a) Caso sospechoso: toda persona que trabajó en la planta procesadora los días 28, 29 y 31 de marzo y haya presentado uno o más de los siguientes síntomas como ser cefalea, mareo, reacciones oculares (ardor, dolor, escozor, visión borrosa), dolor abdominal, vómitos, diarrea.

b) Caso confirmado por laboratorio: caso sospechoso que presentó signos y síntomas compatibles con una intoxicación aguda relacionada a la exposición a algún plaguicida, donde las pruebas de laboratorio realizadas de acuerdo al tipo de plaguicida muestren alguna alteración.

c) Caso confirmado epidemiológicamente: todo caso sospechoso con el cual se pueda establecer uno de los siguientes criterios; presencia de signos y síntomas compatibles con una intoxicación aguda a pesticidas; relación causal entre los síntomas y el pesticida utilizado; relación entre tiempo y lugar de exposición y síntomas producidos por el pesticida utilizado.

Se visitó la planta procesadora de granos para visualizar tanto el área como el sistema de trabajo.

La encuesta utilizada para la BA fue construida con Epi Info 7.1.5; los datos fueron analizados con el mismo paquete estadístico; se utilizaron medidas de tendencia central como la media, números absolutos y porcentajes para representar los resultados. Se calculó el riesgo relativo (RR) para un intérvalo de confianza del 95%, en donde la asociación se daba cuando $p<0,05$.

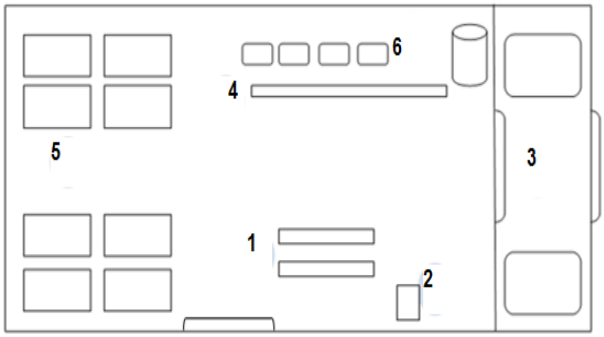
CUESTIONES ÉTICAS

Los datos obtenidos fueron manejados en forma confidencial y utilizados exclusivamente para el cumplimiento de los objetivos propuestos. La investigación de los casos se ajustó a los lineamientos para las investigaciones de brotes de la DGVS.

RESULTADOS

Descripción Ambiental

El área de trabajo de la planta procesadora de granos era un tinglado de aproximadamente 1.500 m2, la única área dividido por una pared de ladrillo, lugar donde se guardan las estibas (nº 3), que son los granos embolsados, siendo estos el objeto de fumigación. Esta pared tiene una puerta de metal corrediza sin cierre hermético. Las cintas corredizas, donde son seleccionados los granos para su posterior embolsado (nº 1), concentraban mayor cantidad de empleados durante ocho horas de tiempo laboral, dista aproximadamente a cinco metros del lugar de fumigación. El tinglado posee extractores de aire, piso lecherado (cemento sobre contrapiso), puertas corredizas no herméticas (Figura 1).



Área de aproximadamente 1500 mts^2

1. Cintas de selección de granos
2. Mesa de analista de granos
3. Estibas para la fumigación
4. Muro divisor (aproximadamente 1mt. de altura)
5. Granos embolsados
6. Embolsado listo para exportación, bolsas de 1000 k.

Figura 1. Plano de la planta procesadora de granos. Intoxicación con gas fosfina. Paraguay 2014.

Descripción del evento

Los empleados presentaron síntomas desde el 28 de marzo, día en que se fumigó con gas fosfina a través de una empresa tercerizada según un informe presentado por el Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (SENAVE)(4). El 29 de marzo los empleados refirieron realizar una fumigación con AIP (nombre comercial: Phostoxin, Gastoxin, Pestoxin) en horas del mediodía, al término del trabajo se retiraron del local; el 30 de marzo la planta permaneció cerrada (domingo). El día 31 los empleados ingresaron al tinglado refiriendo que en ese día amaneció lloviendo por lo que todos permanecieron dentro del local, en horas de la tarde las estibas fueron descarpadas, inician síntomas algunos empleados; el 1 de abril se presentó la mayor cantidad de manifestaciones clínicas en los intoxicados y el 2 de abril los intoxicados consultaron en un servicio de salud cercano a la planta siendo derivados al CNTox quedando internados por 24 horas (Figura 2).

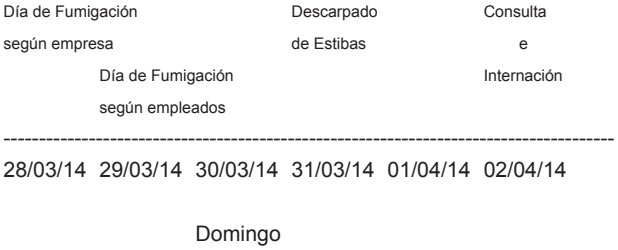


Figura 2. Línea de tiempo, Intoxicación con Gas Fosfina. Paraguay 2014.

La planta tenía 28 personas trabajando en el sector de procesamiento de granos; el 71,4% (20/28) de los encuestados fue del sexo femenino, una media de edad de 26,5 años (±6,53). Entre las funciones de los empleados estaban: analista de granos, ayudantes de fumigación y picoteadoras (personas encargadas de la selección de los granos en mal estado sobre una cinta corredora); 25 empleados fueron del distrito de Mariano R. Alonso, los tres restantes son de Fernando de la Mora, Limpio y Luque respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Características generales de los trabajadores de la planta procesadora de granos. Intoxicación con Gas Fosfina. Paraguay 2014.

Características		n	%
Sexo femenino		20	71,4
Edad - media		26,5	6,53 DE*
Funciones	Seleccionador de granos	19	68
	Ayudante de fumigador	2	7
	Otros**	7	25
Actividad en la planta#	Dentro	26	93
	Afuera	2	7

*Desviación Estándar
**Mantenimiento, jardinería, montacarguista, analista, cargador, servicio general, encargado de producción
#Lugar

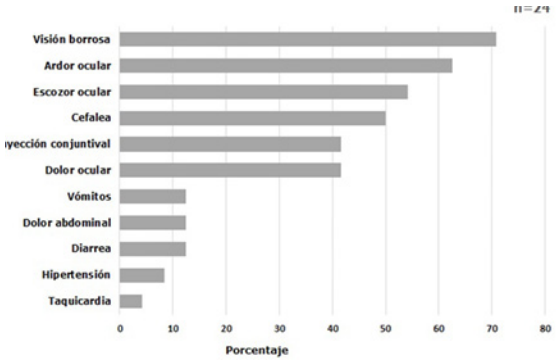


Figura 3. Frecuencia de síntomas. Intoxicación con Gas Fosfina. Paraguay 2014.

El 75% (18/24) de las personas con síntomas buscaron asistencia médica, dos en el Instituto de Previsión Social (IPS) y 16 en el CEM, lugar donde quedaron internadas 15 personas en la sala de urgencias. Las funciones que realizaban los intoxicados en la planta procesadora eran seleccionadora de granos, analista de granos, ayudantes de fumigación, jardinería y carga bolsas, (Tabla 2).

Tabla 2. Características de los intoxicados. Intoxicación con Gas Fosfina. Paraguay 2014.

Características de los intoxicados		n	%
Sexo femenino		20	83,3
Edad - media		26,4	6,95 DE*
Buscaron asistencia sanitaria		18	75
Quedaron internados		15	83,3
Funciones	Seleccionador de granos	19	79,1
	Ayudante de fumigación	2	8,3
	Otros*	3	12,4
	Tasa de ataque	24/28	85,7 x 100

Se realizó un análisis bi-variado con el sexo, las funciones laborales, el lugar de trabajo y uso de equipo de protección personal (EPP) (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis bi-variado. Intoxicación con Gas Fosfina. Paraguay 2014.

Variable	Intoxicación Si n= 24	Intoxicación No n= 4	RR	IC	p* <0,05
Sexo					
Femenino	20	0			
Masculino	4	4	2	1,00 - 3,99	0,003
Funciones					
Selección de granos	19	0	1,8		
Otros	5	4		1,00 - 3,22	0,006
Uso de EPP**					
Gafas					
Si	5	0			
No	19	4	1,7	0,43 - 7,12	0,269
Mascarilla facial					
Si	18	1	1,2	1,00 - 1,04	0,432
No	6	3			

* Exacta de Fischer, ** Equipo de Protección Personal

Medidas de control

Los intoxicados fueron recibidos por el toxicólogo de guardia del CEM quien ordenó procedimientos acordes al protocolo: baño y cambio de ropas, lavado ocular, hidratación parenteral y nebulización. Se tomaron muestras biológicas para las siguientes determinaciones: hemograma, perfil hepático, electrolitos y gasometría, ninguna determinación fuera del rango. El día 3 de abril se tomaron cuatro muestras de orina para el screening toxicológico buscando metabolitos del gas inhalado a cuatro de los pacientes que presentaron cuadros más agudos y se dio de alta médica a los 15 internados. Los que acudieron al IPS recibieron atención ambulatoria.

Factores de riesgo

El día lunes 31 de marzo y debido a la inclemencia del tiempo, los trabajadores ingresan a la planta sin esperar que la misma sea ventilada, con tapabocas común y sin protectores oculares.

Durante la visita a la empresa los encargados de la misma manifestaron sospechar que la carga de poroto que estaba siendo procesada en la planta, podría estar en malas condiciones, razón por la cual enviaron una muestra a la Argentina, para su estudio.

DISCUSIÓN

El AIP tiene propiedades consideradas ideales ya que es tóxico para todos los estadíos del insecto, es altamente

potente y no afecta la viabilidad del grano, es libre de residuos tóxicos y deja poco residuo en los granos comestibles(5). El producto se aplica a cereales (trigo, cebada, avena, etc.), leguminosas (maní, arveja, etc.), productos embolsados (harina, sémola, frutos, etc.), y otros productos elaborados, siempre que los envases sean permeables al gas; se puede aplicar en depósitos herméticos o bajo lonas plásticas impermeables (mínimo 100 micrones).

La toxicidad del AIP está relacionada con su capacidad de liberar el componente activo: la fosfina, el cual es rápidamente absorbido por inhalación, ingestión y contacto con piel o mucosas, el AIP genera 1 gramo de fosfina por cada tableta de 3 gramos, es un gas incoloro e inodoro pero expuesto al aire genera un olor parecido al ajo o pez muerto(6) lo que no descarta la ocurrencia de intoxicaciones por fosfina en un ambiente sin olor aparente. Las presentaciones sólidas del producto vienen con estabilizantes como el carbamato de amonio el cual es liberado en el ambiente junto con la fosfina. La exposición a un agente químico, a partir de una concentración determinada, provoca una sucesión de respuestas que pueden evolucionar hacia un estado de enfermedad(7). En las intoxicaciones agudas al AIP son hoy día más frecuentes los casos de suicidios(8) y los de intoxicación en camioneros transportadores de granos; aunque la literatura describe más casos de tipo moderados y fatales(8), en este evento en particular se ha tenido una intoxicación de tipo leve[10].

Los síntomas iniciales de la inhalación de fosfina son inespecíficos y pueden incluir dolores de cabeza, mareo, entumecimiento, fatiga general, dificultades respiratorias, opresión en el pecho, dolor en la región del diafragma y la tos, molestias gastrointestinales como dolor, náuseas, vómitos y diarrea, el desenlace depende de la concentración de gas inhalado y el tiempo de exposición.

Actualmente el tratamiento es de soporte, la supervivencia es poco probable si se ingieren más de 1,5 g de su estado sólido; la alta mortalidad aparece en las primeras 48 horas del evento[11].

No hay indicadores biológicos de la exposición a la fosfina, pero se puede realizar exámenes laboratoriales en busca de metabolitos[12].

Los manuales de manejo para productos que liberan gas fosfina establecen que el tratamiento de fumigación durará como mínimo 3 días y los locales en donde se efectúen estarán aislados de edificios habitados, quedando cerrados, sellados y ventilados durante 48 horas antes de la entrada de operarios, luego de comprobar la ausencia de fosfina mediante detectores específicos para dicho gas[13].

Es necesario insistir en las recomendaciones de seguridad para su empleo y concienciar a los manipuladores y a los expendedores de este tipo de sustancias de la alta peligrosidad de éstas[14].

Se confirmó la intoxicación de los trabajadores de la planta de procesamiento de granos. El tipo de intoxicación fue accidental ocupacional con una elevada tasa de ataque teniendo como vías de ingreso el inhalatorio y el muco cutáneo. En este estudio las mujeres tuvieron dos veces más riesgo que los varones de sufrir una intoxicación. Dados estos resultados, recomendamos aislar el lugar de la fumigación de los granos hacia otro edificio, alejado del área de producción y de toda área donde exista circulación de personas; implementar normativas para la fumigación segura junto con un plan de monitoreo y supervisión por las autoridades competentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides [Internet]. [citado el 18 de diciembre de 2014]. Disponible en: http://www.fao.org/docrep/005/y4544e/y4544e00.htm

2. Clasificación toxicológica de los plaguicidas según la OMS [Internet]. [citado el 22 de enero de 2015]. Disponible en: http://r.search.yahoo.com/_ylt=A0LEV1XFCMFUecsAgstXNyoA;_ylu=X3oDMTEzaTc4OHFqBHNlYwNzcgRwb3MDMQRjb2xvA2JmMQR2dGlkA1NNRTkyM18x/RV=2/RE=1421965638/RO=10/RU=http%3a%2f%2fpublicaciones.ops.org.ar%2fpublicaciones%2fpublicaciones%2520virtuales%2fproyectoPlaguicidas%2fpdfs%2fanexoB.pdf/RK=0/RS=17q.7JniPo5AUlFx.05Pkn4.blQ-

3. CNTox. Estadísticas - MSP [Internet]. [citado el 22 de enero de 2015]. Disponible en: http://www.mspbs.gov.py/toxicologia/estadisticas/

4. Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas [Internet]. Disponible en: http://www.senave.gov.py/quienes-somos.html

5. Moghadamnia AA. An update on toxicology of aluminum phosphide. Daru J Fac Pharm Tehran Univ Med Sci. 2012;20(1):25.

6. Gurjar M, Baronia AK, Azim A, Sharma K. Managing aluminum phosphide poisonings. J Emerg Trauma Shock [Internet]. 2011 [citado el 20 de abril de 2014];4(3):378–84. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3162709/

7. Simoniello MF, Kleinsorge EC, Carballo MA. Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. Med B Aires [Internet]. diciembre de 2010 [citado el 28 de abril de 2014];70(6):489–98. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0025-76802010000600001&lng=es&nrm=iso&tlng=es

8. Khosla SN, Handa R, Khosla P. Aluminium phosphide poisoning. Trop Doct. octubre de 1992;22(4):155–7.

9. CDC - NIOSH Data and Statistics Gateway [Internet]. [citado el 23 de enero de 2015]. Disponible en: http://www.cdc.gov/niosh/data/

10. Severity Index for use in State-based Surveillance of Acute Pesticide-Related Illnes and Injury.

11. R G Bogle, P Theron, P Brooks, P I Dargan, J Redhead. Aluminium phosphide poisoning. Emerg Med J [Internet]. enero de 2006;23 (1)(3). Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2564148/

12. J. S. Chopra A. Chandna, O. P. Kalra, V. S. Malik, R. Sharma. Aluminium phosphide poisoning: a prospective study of 16 cases in one year. PMID 3658848 [Internet]. diciembre de 1986 [citado el 22 de julio de 2016];62(734)(Postgraduate Medical Journal):1113–5. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2418928/

13. AAA El Manual Tecnico Gastoxin [Internet]. Scribd. [citado el 22 de enero de 2015]. Disponible en: https://es.scribd.com/doc/203582174/AAA-El-Manual-Tecnico-Gastoxin

14. Pérez Navero JL, Ibarra de la Rosa I, Frías Pérez MA, Arroyo Marín MJ, Pérez Jorge P. Intoxicación letal por inhalación accidental de fosfuro alumínico. An Pediatría [Internet]. el 1 de noviembre de 2009 [citado el 29 de julio de 2019];71(5):427–31. Disponible en: http://www.analesdepediatria.org/es-intoxicacin-letal-por-inhalacin-accidental-articulo-S1695403309004652

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Original

Vigilancia virológica de Influenza y otros virus respiratorios durante el periodo post-pandémico 2010-2011 en Paraguay

Vazquez C .[1], Gamarra M.[1], Villalba S.[1], Bobadilla M.[1], Ortega M.[1], Oviedo A.[1], Arellano C.[1], Paredes W.[1], Oviedo E.[1], Figueredo S.[1], Ramirez L.[1], Torales J.[1], Fariña H.[1], Cabello M.[2]

[1] Departamento de Virología. Laboratorio Central de Salud Pública. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.
[2] Dirección General de Vigilancia de la Salud. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social

RESUMEN

En el año 2009, la circulación de una cepa triple resultante de Influenza A H1N1 2009, desplazó a las previamente circulantes, observándose un cambio en el rango etario de infección. Después de que la OMS declaró el término de la fase 6 de Alerta Pandémica, y el paso al Periodo Post-pandémico, señaló la importancia de continuar monitoreando el comportamiento del virus influenza. El LCSP, como CNI de Paraguay, se ha esforzado en cumplir a cabalidad su Rol en la Vigilancia Virológica de Influenza, con el objetivo de caracterizar virológicamente los virus influenza y describir su comportamiento, y el de otros virus respiratorios circulantes en el Paraguay. Para ello fueron estudiadas 7533 muestras respiratorias de pacientes con sospecha de ETI o IRAG durante el año 2010-2011, tomadas por los Centros Centinela de Vigilancia de Influenza y Hospitales Vigilantes de IRAG y enviadas al LCSP para la detección de Influenza tipo A y B por técnicas de RT-PCR en Tiempo Real, y de los otros virus respiratorios (PIV, VSR, AdV) por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta y aislamiento en cultivos celulares. Entre los positivos, el 7,5% (145) correspondió a FluA/H1N12009; 42 % (806) a FluA/H3; 0,6% (12) a FluA no sub tipificada; 7,5% (145) a FluB, 32 % (626) a VRS, 3,6% (70) a AdV, y 7% (134) a PIV. El virus influenza AH1N1 2009 circuló en proporción moderada durante el año 2010 y Los signos y síntomas más frecuentes en los casos positivos fueron fiebre, tos, dolor de garganta y obstrucción nasal

Palabras claves: Vigilancia centinela, virología, Influenza humana, Paraguay.

ABSTRACT

Virological surveillance of Influenza and other respiratory viruses during the post-pandemic period 2010-2011 in Paraguay

In 2009, the circulation of a triple strain resulting from Influenza A H1N1 2009, displaced the previously circulating, observing a change in the age range of infection. After the WHO declared the end of phase 6 of Pandemic Alert, and the transition to the Post-pandemic Period, it pointed out the importance of continuing to monitor the behavior of the influenza virus. The LCSP, like the CNI of Paraguay, has endeavored to fully fulfill its role in the Virologically Surveillance for Influenza, with the objective of virologically characterizing influenza viruses and describing their behavior, and that of other circulating respiratory viruses in Paraguay. For this, 7533 respiratory samples of patients with suspected TSI or IRAG were studied during the year 2010-2011, taken by the Sentinel Centers for Influenza Surveillance and IRAG Surveillance Hospitals and sent to the LCSP for the detection of Influenza type A and B by Real-time RT-PCR techniques, and the other respiratory viruses (PIV, VSR, AdV) by the technique of Indirect Immunofluorescence and isolation in cell cultures. Among the positive ones, 7.5% (145) corresponded to FluA / H1N12009; 42% (806) at FluA / H3; 0.6% (12) to non-subtyped FluA; 7.5% (145) at FluB, 32% (626) at VRS, 3.6% (70) at AdV, and 7% (134) at PIV. The 2009 AH1N1 influenza virus circulated in a moderate proportion during 2010 and the most frequent signs and symptoms in positive cases were fever, cough, sore throat and nasal obstruction

Keywords: Sentinel Surveillance, virology, Human influenza, Paraguay.

Autor para correspondencia:
Dra. Cynthia Vázquez. Laboratorio Central de Salud Pública y Bienestar Social.
Correo electrónico: cynthiavlm@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La vigilancia virológica de agentes responsables de Infecciones Respiratorias Agudas (IRAs), permite conocer la frecuencia y distribución de los principales virus respiratorios circulantes, la sub tipificación y caracterización de los virus influenza y características de la población afectada, para la adopción de medidas de prevención, detección y caracterización de brotes, así como la adopción de medidas de control de salud pública.

Los Centros Nacionales de Influenza (CNI) son la espina dorsal de la Red Mundial para la Vigilancia de la Influenza de la OMS, que trabaja para proteger la salud pública mundial actualizando las composiciones de la vacuna contra la influenza estacional, y funcionando como un mecanismo de alerta mundial para la aparición de los virus de la influenza con potencial pandémico, apoyando las recomendaciones de la OMS para vigilancia y vacuna, haciendo una enorme contribución al conocimiento de la epidemiología de la influenza[1].

En el año 2009, la circulación de una cepa triple resultante de Influenza A (FluA/H1N1 2009), desplazó a las previamente circulantes, observándose un cambio en el rango etario de infección, siendo más prevalente que lo usual en adultos jóvenes 2. El 10 de agosto del 2010, la OMS declaró el término de la fase 6 de Alerta Pandémica, y el paso al Periodo Post-pandémico 3. Señalaron que se esperaba que el virus de la influenza A/H1N1 2009 se comportara, en adelante como un virus estacional, que continuaría circulando en los próximos años, con brotes localizados de distinta magnitud. Sin embargo, así como las pandemias, al igual que los virus que las causan, son impredecibles, también lo es el periodo post-pandémico inmediato, con la probabilidad de que el virus siguiera provocando una grave morbilidad entre los grupos que durante la pandemia habían sido considerados como de mayor riesgo de sufrir afecciones graves o mortales 5-8. Por tal motivo resulta extremadamente importante la vigilancia continua según las recomendaciones específicas para este periodo. Además, en una pequeña proporción de las personas infectadas durante la pandemia, incluidos jóvenes en buen estado de salud, cursó una forma grave de neumonía viral primaria que no suele observarse durante las epidemias estacionales y que se muestra particularmente rebelde al tratamiento 9. La incertidumbre de si esa pauta cambiaría durante el periodo post-pandémico, no hace sino subrayar la necesidad de mantener sensible la vigilancia.

El Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP), como CNI de Paraguay, se ha esforzado en cumplir a cabalidad su Rol en la Vigilancia Virológica de Influenza y otros virus respiratorios durante los periodos pandémico y post-pandémico.

OBJETIVO

Caracterizar virológicamente los virus influenza y describir su comportamiento, y el de otros virus respiratorios circulantes en el Paraguay durante el periodo post-pandémico 2010-2011.

MATERIALES Y METODOS

Población estudiada: Fueron incluidos 7553 pacientes con sospecha de Enfermedad tipo Influenza (ETI) o Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG) según definiciones de casos del Protocolo Genérico de la OMS 10, que acudieron a los servicios de los Centros Centinela de Vigilancia de Influenza y Hospitales Vigilantes de IRAG, y cuyos especímenes clínicos fueron recibidos y estudiados en el LCSP, desde enero de 2010 a setiembre de 2011.

Tipo de estudio: Fue realizado un estudio retrospectivo observacional descriptivo de corte transverso.

Colecta de Muestras: Muestras de hisopado nasal y faríngeo, fueron recolectados en medio de transporte viral comercial, conservados a 4ºC y remitidas en forma refrigerada al LCSP dentro de las 72 horas después de su recolección. En pacientes hospitalizados en unidades de cuidados intensivos, se recolectaron otros tipos de muestras como: aspirados nasofaríngeos, aspirados traqueales, y lavados bronquioalveolares. Posteriormente, estas muestras son fraccionadas en alícuotas para la realización de Inmunofluorescencia, cultivo celular y pruebas moleculares.

Extracción de ARN viral: el ARN viral fue extraído a partir de la suspensión de cada muestra clínica, utilizándose el reactivo TRIZOL Reagent (Invitrogen-Life Tecnologies), para ello se ha adicionado 120µL de muestra a 375 µL de trizol. Esta suspensión, después de un periodo de incubación a temperatura ambiente fue centrifugada a 12000 rpm a 4˚C, durante 10 minutos. Luego, se adicionaron 100 µL de cloroformo (Sigma-Aldrich®) para la separación de fases y se sometió a una segunda incubación y centrifugación para la precipitación del ARN viral. En la siguiente etapa fue desechada la fase acuosa y se adicionó 1mL de etanol al 75%, se mezcló y centrifugó nuevamente a 12000 rpm a 4˚C, durante 5 minutos. Finalmente, después de eliminar el etanol residual se dejó secar el precipitado y se resuspendió el material seco con 50 µL de agua libre de RNAsas.

Diagnóstico Molecular de Influenza: La detección de influenza tipo A y B (IAV e IBV); y la subtipificación de las muestras positivas para IAV, fueron realizadas siguiendo el protocolo no publicado de Transcripción Reversa y Reacción en Cadena de la polimerasa en Tiempo

Real (qRT-PCR) de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades Atlanta/GA/USA (CDC), para los virus estacionales (A/H1, A/H3); y el protocolo publicado por CDC en abril del 2009 para el virus pandémico A/H1 2009 16. Fue utilizado un termociclador StepOne de Applied Biosystems.

Detección de Virus Respiratorios por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI): Se realizó mediante la detección de antígenos de virus parainfluenza 1/2/3 (PIV), virus respiratorio sincicial (VRS) y adenovirus (AdV) en las secreciones respiratorias por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, utilizando anticuerpos monoclonales específicos disponibles comercialmente (Respiratory Panel, Milipore, USA). La lectura se realizó con microscopio de epi-iluminación Nikkon con lámpara de halógeno, y se consideró un resultado positivo cuando se observaron por lo menos 2 células con inclusiones fluorescentes características en todo el pocillo 17, 18.

Aislamiento de virus influenza en cultivos celulares: Fueron inoculadas 200µL de las muestras en la línea Celular Madin-Darby Canine Kidney cells (MDCK), ATCC CCL34, con medio esencial mínimo (MEM) suplementado con albúmina al 0,2% y tripsina al 1%. Fueron luego incubadas a 37ºC por 7 días en incubadora con intercambio de CO2. El aislamiento fue confirmado por Inhibición de la Hemaglutinación con glóbulos rojos de pavo y por Inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales específicos.

Caracterización antigénica de influenza: Fue realizada por la técnica de Inhibición de la Hemaglutinación, enfrentando los aislados virales con antisueros específicos contra las variantes antigénicas semejantes a las contenidas en las últimas fórmulas vacunales.

Determinación de la Susceptibilidad de cepas de influenza a antivirales: Fue realizado en CDC mediante ensayos de inhibición de neuraminidasa y secuenciación nucleotídica para la detección del gen de resistencia a los inhibidores de la neuraminidasa

Datos clínico-epidemiológicos: Fueron obtenidos mediante el llenado por el médico tratante, de un formulario con datos demográficos (edad, sexo y procedencia del paciente), servicio de consulta, fechas de inicio de los síntomas y de toma de muestra, tipo de muestra recolectada, signos/síntomas clínicos y sospecha diagnóstica del médico tratante.

Análisis estadístico: Los resultados obtenidos y los datos de las fichas clínico-epidemiológicas fueron cargados en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel. Posteriormente fueron analizados con herramientas de Estadística Descriptiva y fue aplicado el test de chi-cuadrado para análisis de significancia estadística en cuanto características clínicas e internación asociados a los virus investigados, considerando estadísticamente significante un valor P igual o menor que 0,05.

RESULTADOS

De enero de 2010 a setiembre del 2011, un total de 7553 especímenes respiratorios fueron testados para la detección de influenza y otros virus respiratorios comunes, resultando el 35% (1938) de ellos positivos para al menos uno de los virus investigados. Entre los positivos, el 7,5% (145) correspondió a FluA/H1N12009; 42 % (806) a FluA/H3; 0,6% (12) a FluA no subtipificada; 7,5% (145) a FluB, 32 % (626) a VRS, 3,6% (70) a AdV, y 7% (134) a PIV.

Se logró aislar en cultivos celulares 40 cepas de Influenza A y 5 de Influenza B, de 195 muestras inoculadas en total. Los aislados fueron enviados al CDC para la caracterización molecular y antigénica; y determinación de susceptibilidad a antivirales, los resultados se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización antigénica y susceptibilidad a antivirales de virus influenza circulantes en Paraguay 2010-2011

Tipo / Subtipo	Variante	Susceptibilidad a antivirales
A/H3N2	A/PERTH/16/2009-LIKE *	Sensibles a Oseltamivir y Zanamivir
A/H1N1 2009	A/CALIFORNIA/07/2009*	Sensibles a Oseltamivir y Zanamivir
B	B/YAMAGATA/16/88 LINEAGE	Sensibles a Oseltamivir y Zanamivir

*Cepa recomendada para la formulación vacunal 2011 y 2012 del hemisferio sur.

La etiología viral en función a las semanas epidemiológicas (SE), se muestra en la figura 1. El virus influenza AH1N1 2009 circuló en proporción moderada durante el año 2010 con picos de detección entre las SE 27 a 40, lo que corresponde a invierno y primavera. Sin embargo, en el 2011 prácticamente no fue detectada la circulación del virus pandémico, con un solo caso aislado en la SE 5. Fue detectado un brote inusual de FluA/H3 entre las semanas 41 del 2010 y 4 del 2011, con pico en la SE 1 del año 2011, coincidiendo con meses cálidos al final de la primavera e inicio del verano. La mayor parte de los virus de influenza B circularon en el invierno e inicio de

la primavera del año 2010 entre las semanas 25 y 41, mientras que en el año 2011 la detección de este virus fue escasa. Se observaron picos de detección de VRS en el otoño de los años estudiados, aunque fue detectado en forma sostenida durante casi todos los meses del año. Los virus PIV fueron detectados regularmente sin un patrón estacional bien definido durante el periodo de estudio, al igual que los AdV, aunque estos últimos en una proporción mucho menor.

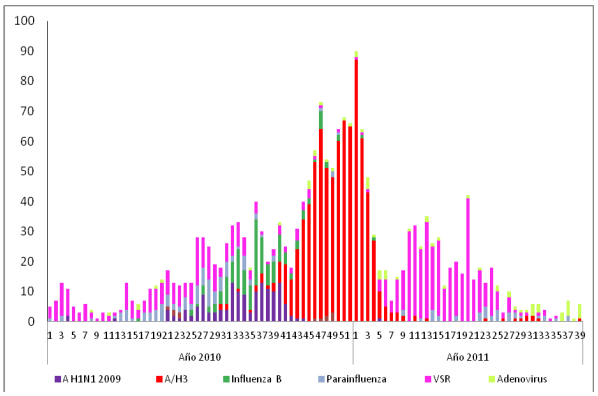


Figura 1. Frecuencia de agentes virales por semana epidemiológica. Paraguay. Años 2010-2011

La distribución de los casos positivos por edad se muestra en la figura 2; la mayor detección viral se observó en el grupo de menores de 2 años. El virus FluA/H3 fue el más frecuente en todos los grupos de edades, excepto en los menores de 2 años, en quienes predominó el VRS.

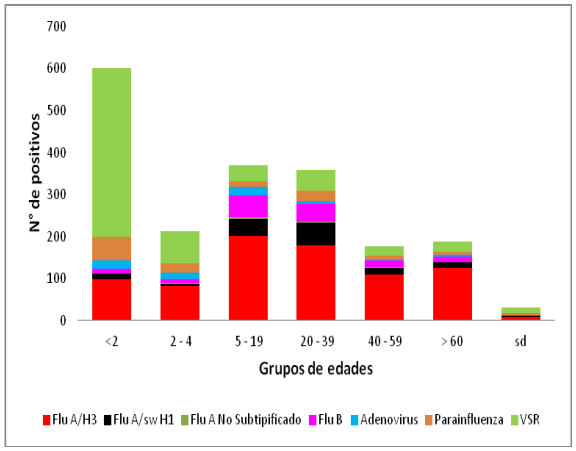


Figura 2. Distribución de agentes virales detectados por grupos de edades. Paraguay 2010-2011

Los signos y síntomas más frecuentes en los casos positivos fueron fiebre, tos, dolor de garganta y obstrucción nasal, mientras que la complicación clínica más reportada fue la neumonía. Los datos se resumen en la Tabla1. La disnea estuvo significativamente asociada al virus pandémico FluA/H1N12009 (p <0,5), ningún otro síntoma o complicación clínica se asoció significativamente a la positividad de algún agente en particular.

En 4.049 pacientes obtuvimos datos de internación o cuidados ambulatorios, en la tabla 3 se muestra la comparación entre pacientes ambulatorios e internados con respecto a la detección de virus. No se encontró asociación significativa de la internación con ningún virus detectado, en el grupo de pacientes analizados.

Tabla 2. Características clínicas por agente viral detectado. Paraguay. 2010-2011

Variables	Agente viral					
	FluA/ H3	FluA/ H1	FluB	VSR	PIV	AdV
	n = 806 %	n = 145 %	n = 145 %	n = 626 %	n = 134 %	n = 70 %
Signos/síntomas						
Fiebre	99	76	77	33	43	29
Tos	52	64	58	27	29	25
Dolor de garganta	42	45	45	12	14	10
Mialgia	35	43	37	8	33	19
Obstrucción nasal	34	43	39	21	4	4
Dolor de oído	8	8	10	3	17	3
Disnea	5	28	10	10	3	1
Diarrea	4	4	3	2	-	11
Complicaciones						
Neumonía	20	11	11	14	13	0
Bronquitis	1	1	0	7	6	3

Tabla 3: Comparación entre pacientes ambulatorios e internados con respecto a la detección de virus.

Virus	Ambulatorio	Hospitalizados	TOTAL
	n (%)	n (%)	
FluA/H3	444 (59)	308 (41)	752
FluA/H1N1 (2009)	46 (47)	52 (53)	98
FluB	59 (63)	35 (37)	94
VRS	112 (40)	171 (60)	283
PIV	41 (54)	35 (46)	76
AdV	9 (38)	15 (63)	24

DISCUSIÓN

En las últimas décadas, la influenza epidémica y pandémica ha sido responsable de causar enfermedad ampliamente extendida, trastornos económicos y pérdidas de vidas humanas en todo el mundo 14-15. Mientras que la recurrencia de la influenza estacional se espera cada año, sigue siendo difícil predecir las cepas estacionales predominantes y es imposible saber cuándo y dónde surgirá la próxima pandemia humana. El monitoreo regional oportuno de la circulación de los virus influenza es una prioridad para la vigilancia estacional y detección oportuna de cepas con potencial pandémico[16].

En el presente trabajo reportamos las características y el comportamiento de los virus influenza y otros virus respiratorios que circularon en el Paraguay en el periodo post-pandémico 2010-2011. Hemos recibido y analizado un elevado número de muestras, probablemente debido a la sensibilización del sistema de salud ante la reciente pandemia del año 2009. La amplitud de la población estudiada, a lo largo de casi dos años de vigilancia, proporciona información valiosa acerca de las características y comportamiento de los virus investigados. Este hecho nos permitió detectar un importante brote de Influenza A/H3, en un periodo de tiempo inusual, durante el verano 2010-2011, que según la Dirección General de Vigilancia de la Salud (DGVS parte semanal de influenza), incluso fue responsable de un considerable número de muertes.

En el periodo de tiempo estudiado, IAV continúo siendo el virus respiratorio más frecuentemente encontrado al igual que en la pandemia, a diferencia de años previos cuando predominaba el VRS, aunque este último permaneció en mayor proporción en los pacientes menores de 2 años.

El aislamiento y caracterización de los virus influenza circulantes localmente, proveyó información oportuna para ser incluida en la formulación vacunal del hemisferio sur, lo cual incide en la prevención de epidemias y muertes.

No hemos constatado una diferencia significativa entre el número de pacientes hospitalizados y ambulatorios, afectados por el panel de virus investigado. De igual modo no se han encontrado características clínicas o complicaciones asociadas a algún virus en particular, aunque solo nos limitamos a analizar los datos consignados por los médicos tratantes, y no desconocemos que se requiere un trabajo conjunto y un monitoreo más cercano para llegar a conclusiones relevantes en el ámbito clínico.

Describimos también, la estacionalidad de otros virus respiratorios durante el periodo estudiado, así el VRS predominó en el otoño de ambos años, mientras que el IBV cocirculó con el virus pandémico AH12009 durante el invierno del 2011. Sin embargo, debemos considerar que, en el periodo post-pandémico, la estacionalidad de la mayoría de los virus aún se encuentra algo desplazada debido al efecto pandémico.

La evaluación clínico-epidemiológica rápida de la morbilidad y la mortalidad relacionados con influenza sigue siendo un reto para la salud pública debido a los síntomas no específicos, la dificultad en la obtención continua y representativa de datos, y en la confirmación de laboratorio en forma masiva. Por lo tanto, los datos resultantes del análisis de un importante número de pacientes, podrían orientar en las intervenciones en salud pública y asistencia sanitaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. El rol de los Centros Nacionales de Influenza (CNI) durante Períodos Interpandémicos, de Alerta Pandémica y Pandémicos. Documento Interino, Mayo de 2007. OPS/OMS. http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/vir-flu-nics.pdf

2. Carcione D, Giele C, Dowse G, Mak D, Goggin L, Kwan K, Williams S, Smith D, and Effler P. Comparison of Pandemic (H1N1) 2009 and Seasonal Influenza, Western Australia, 2009. Emerging Infectious Diseases. www.cdc.gov/eid. Vol. 16, No. 9, September 2010

3. www.who.int/entity/mediacentre/news/statements/2010/h1n1_vpc_20100810/es/

4. World Health Organization. Clinical features of severe cases of pandemic influenza [cited 2010 Jan 17]. http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1_clinical_features_20091016/en/index.html.

5. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Bridges CB, Cox NJ, et al. Infl uenza-associated hospitalizations in the United States. JAMA. 2004;292:1333–40. DOI: 10.1001/jama.292.11.1333

6. Louie JK, Acosta M, Jamieson DJ, Honein MA, California Pandemic (H1N1) Working Group. Severe 2009 H1N1 infl uenza in pregnant and postpartum women in California. lifornia. N Engl J Med. 2010;362:27–35. DOI: 10.1056
NEJMoa0910444

7. Centers for Disease Control and Prevention. Hospitalized patients with novel infl uenza A (H1N1) virus infection-California, April– May, 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2009;58:536–41.

8. Centers for Disease Control and Prevention. Intensi-

ve-care patients with severe novel infl uenza A (H1N1) virus infection—Michigan, June 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2009;58:749–52.

9. Chowell G, Bertozzi SM, Colchero MA, Lopez-Gatall H, Alpuche- Aranda C, Hernandez M, et al. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 infl uenza. N Engl J Med. 2009;361:674–9. DOI: 10.1056/NEJMoa0904023

10. OPS-CDC. Protocolo genérico para la vigilancia de la influenzawww.paho.org/spanish/ad/dpc/cd/flu-snl-gpis.pdf

11. CDC protocol of real time RT-PCR for influenza A (H1N1). www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html

12. Kendal AP, Pereira MS, Skehel J 1982. Immunofluorescence Assay. Concepts and procedures for laboratory based influenza surveillance. Centers for Disease Control and Organización Sanitaria Panamericana; B 59-63.

13. Ray CG and Minnich LL 1987. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. J Clin Microbiol; 25(2): 355-7

14. Glezen WP (1996) Emerging Infections: Pandemic influenza. Epidemiol Rev 18: 64–76.

15. Nicholson KG, Wood JM, Zambon M (2003) Influenza. Lancet 362: 1733–1745.

16. Palese P (2004) Influenza: Old and new threats. Nat Med 10: S82–87. US Department of Health and Human Services (2006) HHS pandemic influenza preparedness plan. Available: http://www.hhs.gov/pandemicflu/ plan/.

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Original

Vigilancia de la Salud durante la visita del Papa Francisco I: Resultados de la implementación del sistema de vigilancia activa en eventos masivos. Paraguay - 2015

Cabello A.[1,2], Lima P.[1], Ramirez D.[1], Villafañe M.[1], Galeano R.[1], Sanchez J.[1], Cousiño B.[1], Recalde D.[1], Ramirez A.[3], Luraschi P.[4], Ferloni A.[5], Martinez B.[1], Ojeda A.[1]

[1] Direccion General de Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud
[2] Instituto de Investigaciones en ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Asunción
[3] Tercera Region Sanitaria, Cordillera
[4] Undecima Región Sanitaria, Central
[5] Decimo octava Región Sanitaria, Asunción

RESUMEN

La visita oficial al Paraguay del Papa Francisco I se realizó del 10 - 12 de julio del 2015 movilizando entre 80.000 y 800.000 personas en los eventos de mayor concentración. La Dirección General de Vigilancia de la Salud planificó y desarrolló tres tipos de vigilancia: a. vigilancia pasiva en establecimientos de salud b. vigilancia activa en establecimientos y puestos móviles montados para el evento c. vigilancia de rumores, con objetivo de garantizar información oportuna sobre eventos de riesgo para la salud relacionados con el acontecimiento masivo. Además se tuvo como objetivo cumplir con la función de notificar toda potencial "Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional" (ESPII) a través del Centro Nacional de Enlace para el Reglamento Sanitario Internacional (2005).Se trabajó en coodinación con la Comisión Interinstitucional, que aprobó el plan de salud y declara alerta sanitaria del 3 al 20 de julio, en 9 departamentos involucrados.A partir del inicio de la Vigilancia activa (9-12 de julio) fueron captadas un total de 4.137 atenciones en salud relacionadas al evento. El 12 de julio se registró el mayor número de atenciones coincidentemente que en esta fecha hubo mayor concentracion.El porcentaje de eventos de salud atendidos, en relación al número de participantes de los eventos fue del 0,1% y el 0,9%. Este porcentaje fue bastante menor al factor de estimación de ocurrencia de eventos de salud en eventos masivos similares que a nivel mundial va del 2% al 5%. Durante la Vigilancia activa no se registraron brotes, ni ESPII.

Palabras claves: Eventos Masivos, Vigilancia Activa, Papa Francisco I, Paraguay

ABSTRACT

Health surveillance during the visit of Pope Francis I: results of the implementation of the active surveillance system in mass events – Paraguay 2015.

The official visit to Paraguay of Pope Francis I was held from July 10 - 12, 2015, mobilizing between 80,000 and 800,000 people in the events of greatest concentration. The General Directorate of Health Surveillance planned and developed three types of surveillance: a. passive surveillance in health facilities b. active surveillance in mobile establishments and stalls mounted for the event c. rumor monitoring, with the objective of guaranteeing timely information on health risk events related to the massive event. In addition, the objective was to fulfill the function of notifying any potential "Public Health Emergency of International Importance" (ESPII) through the National Liaison Center for International Health Regulations (2005). It worked in co-ordination with the Interinstitutionalinstitutional Commission, that approved the health plan and

declared a health alert from July 3 to 20, in 9 departments involved. From the beginning of the active Surveillance (July 9-12), a total of 4,137 health care related to the event were captured. On July 12, the highest number of care was recorded, coincidentally, that there was a greater concentration on this date. The percentage of health events attended, in relation to the number of event participants was 0.1% and 0.9%. This percentage was much lower than the factor of estimation of the occurrence of health events in similar massive events that worldwide ranges from 2% to 5%. During the Active Surveillance there were no outbreaks, nor ESPII.

Keywords: Massive Events, Active Surveillance, Pope Francis I, Paraguay.

Autor para correspondencia:
Dra. María Águeda Cabello. Dirección General de Vigilancia de la Salud
Correo electrónico: aguedacabello@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La OMS en “Communicable disease alert and response for mass gatherings: key considerations, publicado en junio de 2008 define al evento en masa como una reunión de personas generalmente "más de un número específico de personas (que puede ser tan poco como 1000 personas, aunque gran parte de la literatura disponible describe reuniones que exceden las 25 000 personas) en un lugar específico para un propósito específico (una función social, gran evento público o competencia deportiva) por un período de tiempo definido "[1].

Entre el viernes 10 y domingo 12 de julio del 2015 se realizo un evento en masa en el Paraguay, que fué la visita oficial al Paraguay del Pontífice de la Iglesia Católica, el Papa Francisco I. El evento religioso consistió en distintos encuentros y ceremonias programadas, desplegados en diferentes departamentos del país. Considerando que el 92% de los habitantes del país son católicos, se había previsto la movilización de una multitud de personas, incluyendo visitantes de países vecinos. Los organizadores estimaban para cada evento una participación con un mínimo de 15.000 a un máximo de 2.000.000 personas.2 El factor de estimación de ocurrencia de eventos de salud en eventos masivos similares va del 2% al 5%[2].

Durante el mes de julio normalmente se espera un incremento de las Infecciones Respiratorias Agudas (IRA).3 Para la fecha de la visita había, en en el país, circulación simultánea de Dengue (DEN-1, DEN2, DEN-4) y Chikungunya, que afectaba principalmente al Área Metropolitana de Asunción (AMA).3 Existia el riesgo de la propagación del virus ZIKA a través de los viajeros, por la presencia y persistencia del vector en nuestro país. Estaba abierta la probabilidad de que se presentaran enfermedades transmitidas por alimentos y riesgo de reintroducción de malaria, sarampión, rubéola y poliomielitis importados desde países vecinos.

Para coordinar esta contingencia, el Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social había conformado una Comisión Interinstitucional (Resolución S.G.N° 226/2015) que incluia a distintas instituciones con el objetivo de planificar e implementar un programa especial de cobertura de prevención, alerta, respuesta y asistencia sanitaria. Además, la Resolución S.G. N° 408/2015 aprobaba el plan de salud y declaraba alerta sanitaria del 3 al 20 de julio, en 9 departamentos involucrados.4S.G. N° 408/2015 aprobaba el plan de salud y declaraba alerta sanitaria del 3 al 20 de julio, en 9 departamentos involucrados[4].

Se consideraba prioritario garantizar la capacidad de respuesta de los servicios de salud en los diferentes niveles de atención y el organizar el traslado de pacientes, con los diferentes actores de la respuesta interinstitucional para ofrecer una atención en salud oportuna y de calidad, así como detectar oportunamente eventos de riesgo para la salud e implementar acciones de respuesta.

Este evento masivo requeria de la intensificación de la vigilancia epidemiológica y la activación de los mecanismos para intercambiar información sobre eventos de salud pública con los sectores involucrados. Desde el Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social se establecieron las medidas necesarias para asegurar la vigilancia epidemiológica, diagnóstico oportuno y respuesta adecuada de las enfermedades de notificación obligatoria y de eventos inusitados que pueden presentarse. Además se prevé caracterizar el tipo de problemas de salud que se presenten durante el evento, a los efectos de contar con referencia para futuras contingencias similares.

Con respecto a la vigilancia epidemiológica, los objetivos fueron el de contar con datos en forma oportuna y detectar eventos de salud de importancia en salud pública relacionados al evento masivo; analizar y difundir información sobre los eventos de salud a los tomadores de decisión y el público general; adoptar una respuesta coordinada, proporcional y restringida a los riesgos relacionados al evento; y caracterizar los tipos de eventos de salud que se presentan durante el acontecimiento.

MATERIALES Y METODOS

El Protocolo de Vigilancia diseñado para ejecutarse

durante los días 9 y 14 de julio de 2015 aplicó tres tipos de vigilancia epidemiológica: la vigilancia pasiva (rutinaria), la vigilancia activa y la vigilancia de rumores (monitoreo de prensa escrita y audiovisual local, regional e internacional, y redes sociales)

Descripción de la Vigilancia Activa

En el modelo de Vigilancia Activa, el profesional de vigilancia informaba los casos atendidos que guardan relación con la visita papal a través de la recolección de datos primarios y secundarios. En Establecimientos de Salud (23 centros de derivación) se realizó la recolección de datos secundarios, provenientes de las planillas de atención clínica y de las hojas de RAC (recepción, acogida y clasificación) que los servicios utilizan rutinariamente. En los puestos de atención extramurales (149 carpas) se realizó recolección de datos primarios.

Mapa 1. Ubicación de los principales lugares donde se desarrollaron actividades durante la Visita del Papa Francisco al Paraguay.

La población objetivo de la vigilancia activa fueron todas aquellas personas que presenten eventos de salud entre el 9 y el 14 de julio (5 días) del 2015, sean nacionales o extranjeras, visitantes o residentes, que demandaron atención en carpas que cuentan con personal médico y aquellas que consulten o sean remitidas a centros de derivación y manifiesten alguna actividad relacionada a la Visita del Papa Francisco.

El procedimiento consistió en la captación de los datos de las personas que fueron atendidas en los sitios mencionados, a los cuales se aplicó un algoritmo de definición de caso relacionado a la visita (ver Figura 1), a partir del cual se introducían los datos en la FICHA DE ATENCION MEDICA- VISITA DEL PAPA FRANCISCO utilizando el formulario en formato de papel para las carpas y el formulario electrónico en los establecimientos de salud. El equipo de vigilantes encargado del ingreso y envio de datos para la Vigilancia Activa, incluyó a personal del Ministerio de Salud Pública y otros Subsistemas de Salud: IPS, Hospitales Privados, Cruz Roja. Todos los vigilantes fueron previamente capacitados en el protocolo, que incluyo el uso de tecnología con captura de datos a partir de las tabletas, PCs o notebooks donde se instalaron las fichas de recolección de datos.

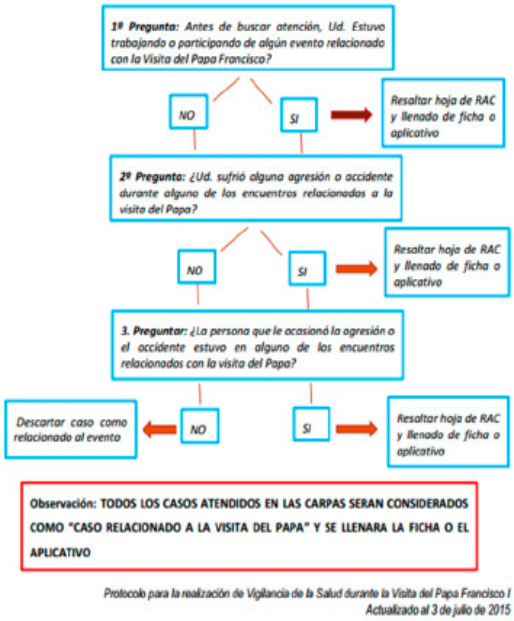


Grafico 1. Algoritmo para la clasificación de casos relacionados a la visita del Papa Francisco I al Paraguay. Julio 2015.

A los vigilantes de los establecimientos de salud involucrados se les proveyó de las tabletas programadas con la ficha, en donde se activó la conexión a internet para el envío de datos. El periodo de prueba se estableció 24 h antes del inicio de la visita . Las fichas en papel fueron distribuidas en las carpas y otros centros no establecidos como de derivación. Las mismas fueron recogidas diariamente por los supervisores y en algunos casos, entregadas directamente por los vigilantes.Los datos introducidos en las fichas electrónicas en los establecimientos de salud, utilizaron el programa EPIinfo 7, programa especialmente elaborado para este evento I. Dicho programa se conectó a una base de datos virtual, y envió la información al tiempo de ocurrencia de las consultas, a través de red de internet. Esto permitió tomar conocimiento inmediato de los casos referidos a los hospitales o centros asistenciales con problemas de salud más severos, que actuaron como centros centinelas.

Por otro lado, en las carpas y puestos extramurales, adonde se asistió a personas con problemas de salud menos severos, y en donde no se contó con conexión a internet, se utilizó la ficha papel, cuyos datos fueron también introducidos al mismo programa de EPIinfo 7 por un equipo de digitadores previamente capacitados. Este proceso se realizó en el centro de información de la DGVS durante todo el periodo y concluyo el 15 de julio.

Todos los datos, independientemente de las fuentes, fueron monitoreados permanentemente en el centro de información de la DGVS, por un equipo capacitado, que verificaba cualquier tipo de informe adicional requerido. El análisis de datos parciales era realizado en forma diaria y los resultados comunicados a las instancias involucradas en la organización del plan mediante los Partes Diarios, elaborados por el Centro Nacional de Enlace (CNE). Los partes diarios se elaboraron del 10 al 13 de lulio y los análisis finales hasta el 16 de julio.

Estimación del número de participantes a los eventos

Se realizó la estimación utilizando registros fotográficos de toma aérea, publicados en medios de prensa, y el cálculo de superficie cubierta, utilizando como herramienta Google Earth. Se utiliza como estimación básica, 4 personas por metro cuadrado de superficie en áreas de mucha concentración; 2 personas por metro cuadrado en áreas de densidad intermedia; y una persona por metro cuadrado en las periferias del evento. Se agregó además un 20% considerando el posible recambio de participantes y la estimación de personas de los alrededores que no aparecen en la foto.

RESULTADOS

Desde el día jueves 09 de julio hasta el domingo 12 de julio se realizaron 4.137 atenciones en salud relacionadas al evento, el 53, 90 % (N=2.230), corresponden a las atenciones realizadas el día domingo 12 de julio. Del total de las consultas registradas el 69 % (N=2871) corresponden al sexo femenino.

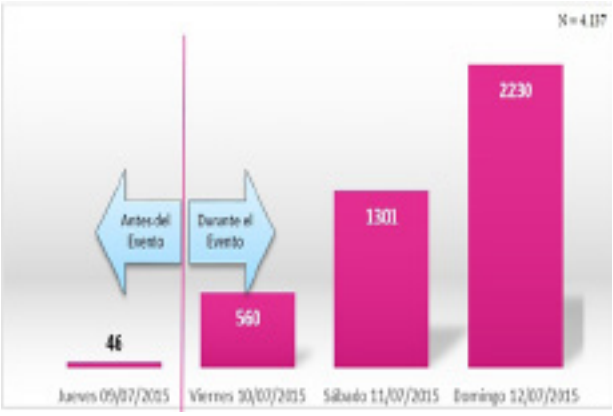


Gráfico 1. Total consultas registradas relacionadas al evento, por fecha. Visita Papa.Paraguay. Año 2015.

Los grupos de edad que consultaron con mayor frecuencia fueron los adolescentes 15 a 19 en un 15,74% (651) y los adultos de 50 a 59 en un 15,52% (642), y en un 15,45% (639) consultaron los jóvenes de 20 a 29.

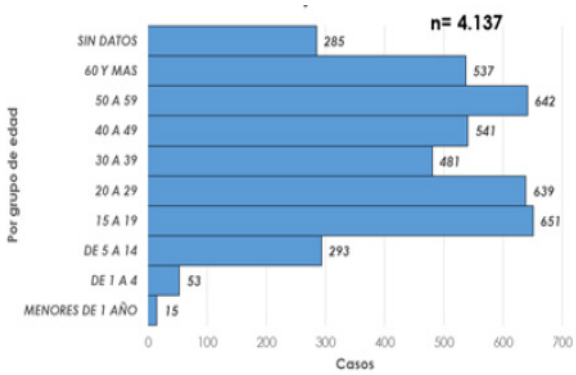


Gráfico 2. Frecuencia de las atenciones relacionadas al evento, por grupos de edad. Visita Papa.Paraguay. Año 2015.

Según la nacionalidad de los consultantes , el 84,87 % (n= 3.511) fueron paraguayos, argentinos 6,19 %. Otros países de residencia de los participantes fueron Brasil, Uruguay, Peru, Chile, Bolivia, Colombia y Venezuela

A traves de la vigilancia activa se pudo clasificar las atenciones realizadas según la relación con el evento que tuvieron los pacientes, 87,1 % fueron participantes (3602), servidores y voluntarios 9,9%(409) y personal sanitario 0,9% (37).

Tabla 1. Atenciones realizadas, según la relación con el evento. Visita Papa.Paraguay. Año 2015.

N = 4.137

Relación con el evento	n	%
Participante	3602	87,1
Servidor/Voluntario	409	9,9
Personal sanitario	37	0,9
Otros	89	2,2

Las atenciones realizadas correspondieron en un 87, 65 % al sector del MSPBS, 5% al sector privado y 2,85 % a IPS. Un 4,5% de atenciones se registró en carpas de la Cruz Roja y las gobernaciones. El 56 % de las consultas relacionadas a la visita del Papa se registraron en la Capital, Asunción.

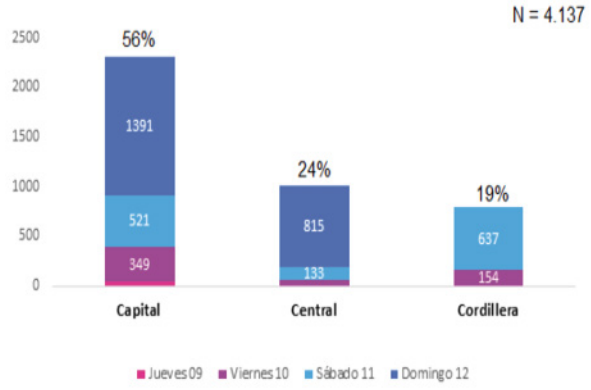


Gráfico 3. Número de las atenciones por día, según región sanitaria. Visita Papa.Paraguay. Año 2015. N= 4137

El 88,32% (3654 atenciones) se realizaron en carpas y 11,68% (483) en los establecimientos de salud. Se registraron un total de 76 (1,84 %) derivaciones, según reporte oficial del Servicio de emergencias médicas extrahospitarias (SEME). En base a datos de signos y sintomas principales registrados en la ficha clinica utilizada en la vigilancia activa, se pueden identificar los sindromes y eventos de salud que se encontraron con mayor frecuencia.

De un total de 4.137 se realizó la clasificación en un 88,2% (3648) de los casos.

Los sindromes y eventos más frecuentes fueron: neurológico en un 39,3% (1625), gastrointestinal 9,2% (380), sindrome respiratorio 8,5% (352), lesiones 6,2% (258) y sindrome doloroso muscoloesquelético 3,8% (158).

El 15,4% de las atenciones realizadas se registraron como controles de enfermedades crónicas, principalmente control de la presión arterial.

Tabla 2. Sindromes y eventos de salud identificados Vigilancia activa. Visita Papa.Paraguay. Año 2015 **N= 4.137**

Sindromes y otros eventos	n	%
Sindrome Neurológico (cefaleas, desmayos, convulsiones, otros)	1.625	39.3
Controles varios de enfermedades cronicas (hipertensión, diabetes)	638	15.4
Sindrome Gastrointestinal (dolor abdominal, nauseas, vomitos, diarreas)	380	9.2
Sindrome Respiratorio (tos, rinorrea, dolor de garganta, dificultad respiratoria)	352	8.5
Lesiones (contusiones, ampollas, luxaciones, fracturas, otros)	258	6.2
Sindrome Muscular (mialgia, altralgia)	158	3.8
Sindrome Febril	65	1.6
Otros eventos (alergias, descompensaciones, ansiedad, otros)	159	3.8
Picaduras y morderuras	13	0.3
No clasificable*	57	1.4
Sin datos	432	10.4

Del total de las 4.137 atenciones captadas mediante vigilancia activa, se constataron 2197 (53%) registros consignados en el apartado de diagnósticos.

Los diagnósticos registrados con mayor frecuencia fueron cefalea (19,98%), hipertensión arterial (16,84%), infección respiratoria aguda –IRA- (8,42%), traumatismos y heridas (6,24%), lipotimia(5,33%), gastroenteritis aguda (4,82%), dolores musculares y articulares (4,51%), mareo (3,23%), deshidratación (1,78%), fatiga (1,78%) y fiebre (1,78%).

Se informaron además, dos mordeduras de perro y 11 picaduras de insectos, de las cuales 6 se debieron a picaduras de avispas y tuvieron lugar en los puntos de concentración de Ñu Guazú, Costanera y Caacupé.

Los cuadros atendidos de mayor gravedad fueron un accidente cerebrovascular –ACV- , dos eventos relacionados a descarga eléctrica y dos politraumatizados. Estos pacientes fueron derivados a los hospitales de referencia.

No se registraron fallecidos durante el evento.

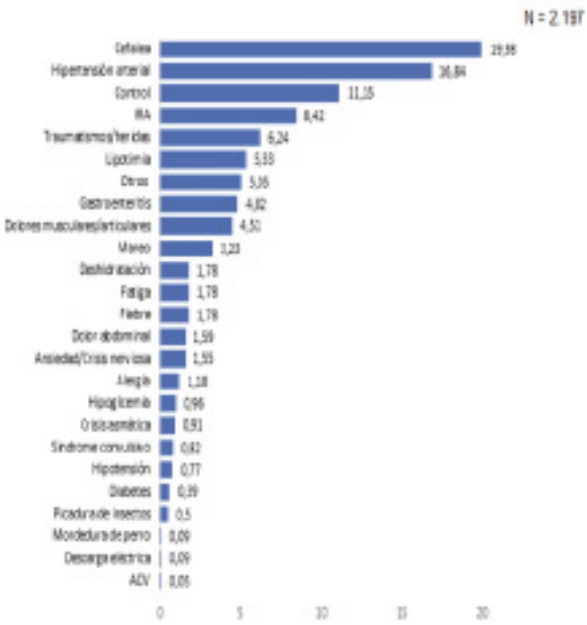


Gráfico 4. Distribución porcentual según diagnósticos. Vigilancia activa. Visita Papa.Paraguay.Año 2015. N= 2197

Se realizó la estimación del número de participantes para los eventos de mayor concurrencia, según lo detallado en la metodología y se comparó con el número de atenciones realizadas, para obtener un porcentaje de demanda de servicios para cada evento masivo.

La plaza frente a la Basílica (Caacupé), donde se concentró la multitud durante el evento, tiene una superficie de 17.000 m2. Calculando una concentración alta (4 personas por metro cuadrado) y una concentración en la periferia del 25%, se estima que en total participaron de la misa central unas 85.000 personas.

Figuras 1a y 1b . Estimación de participantes en Caacupé

En este evento se realizaron en total 792 atenciones. Por tanto, el porcentaje de demanda de atención fue del 0,93%.

En el evento realizado en Ñu Guazú (Asunción) se estimó una superficie total de 340.000 m2, que de acuerdo a las fotografía alcanzó una concentración de tres tipos: a) alta (unos 70.000 m2 en la zona más cercana al escenario, con 4 personas por metros cuadrados); b) media (unos 120.000 m2 en la zona intermedia al escenario, con 2 personas por metros cuadrados); y c) baja (unos 150.000 m2 en la zona más distante al escenario, con 1 persona por metros cuadrados). Además se asumió un 20% más. (Figuras 2a - 2d). En total se estimó que participaron 804.000 personas en Ñu Guazú.

Figuras 2a, 2b, 2c y 2d. Estimación de participantes en Caacupé

En el lugar se registraron en el Sistema de Vigilancia Activa fue de 815 atenciones. El porcentaje de demanda de atención fue del 0,1%.

En el evento realizado en la Costanera de Asunción, se estimó una superficie total de 47.000 m2, que de acuerdo a las fotografía alcanzó una concentración alta (4 personas por metros cuadrados). Además se asumió un 20% más. (Figuras 1a – 1c). En total se estimó que participaron 225.600 personas en Costanera.

Se realizaron en total 577 atenciones. Por tanto, el porcentaje de demanda de atención fue del 0,3%.

Figuras 3a, 3b, 3c y 3d. Estimación de participantes en Costanera, Asuncion

DISCUSIÓN

El modelo de Vigilancia Activa permitió contar con datos para caracterizar el tipo de atenciones requeridas y realizadas durante el evento.Agregar la vigilancia activa a la organización de la vigilancia rutinaria durante un evento masivo permitió contar con fuentes adicionales para la detección de eventos de importancia en salud pública[6-11]

El trabajo integrado con las regiones sanitarias, la seguridad social y el sector privado, desde un centro de información epidemiológica permitió agilizar la captura de datos y garantizar la calidad de la información difundida a los tomadores de decisión.La incorporación del uso de dispositivos móviles a la vigilancia de salud agilizó la carga de datos desde el lugar de ocurrencia del evento.

El análisis realizado permitió conocer los diagnósticos más frecuentes, el numero de personas que trabajaron durante el evento que requirieron atención médica y poder ofrecer a las instituciones que organizan los eventos masivos datos de valor a considerar para otros eventos.

Las principales dificultades encontradas fueron falla en la conexión de internet y energía eléctrica el día domingo, retrasó la recepción y carga de datos en el sistema, lo que dilató la producción del reporte. El acceso a los lugares de atención se vio dificultado por la falta de credenciales de pase libre para el personal de vigilancia de la salud. Se evidenció que las fichas de atención no fueron distribuidas oportunamente en todos los sitios de atención, lo que fue subsanado con el uso de otros instrumentos de registros.

Al igual que en otros países donde se implementó la vigilancia en tiempo real[12], Las estrategias de Vigilancia desarrolladas para detectar eventos del público durante la visita del Papa Francisco I tuvo éxito en la recolección oportuna de Datos para el análisis. La estrecha colaboración y la buena participación de los diferentes socios fueron esenciales para el desarrollo del mismo. Sin embargo, debido a que no ocurrió ningún evento de salud pública, no fue posible determinar si el sistema de vigilancia utilizado tenía suficiente velocidad y sensibilidad para la detección y respuesta oportuna.

Las principales recomendaciones serian el de incorporar la modalidad de vigilancia activa en forma sistemática para los eventos masivos.

Mantener la articulación con el sector privado y la seguridad social para garantizar la representatividad del sistema de vigilancia y la organización de la respuesta.

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO | Communicable disease alert and response for mass gatherings [Internet]. WHO. [citado 9 de agosto de 2019]. Disponible en: https://www.who.int/csr/mass_gathering/en/

2. Informe de Servicios de Emergencias Médicas Extrahospitalarias (SEME). Ministerio de salud. Paraguay

3. Informe de Dirección de Comunicación.Ministerio de salud. Paraguay

4. Informe de Dirección Nacional de Aeronáutica Civil / Dirección de Meteorología e Hidrología. Paraguay

5. Informe de Dirección General de Migraciones de la República del Paraguay.

6. MSPBS (2015) Resolución S.G. N° 408/2015 aprueba el plan de salud y declara alerta sanitaria del 3 al 20 de julio, en 9 departamentos involucrados.

7. DGVS (2015) Protocolo para la realización de Vigilancia de la Salud durante la Visita del Papa Francisco I.

8. Kajita E, Luarca MZ, Wu H, Hwang B, Mascola L. Harnessing Syndromic surveillance Emergency Department Data to Monitor Health Impacts During the 2015 Special Olympics World Games. Public Health Reports 2017, Vol. 132(Supplement 1) 99S-105S

9. Thackway S, Churches T, Fizzell J, Muscatello D, Armstrong P. Should cities hosting mass gatherings invest in public health surveillance and planning? Reflections from a decade of mass gatherings in Sydney, Australia. BMC Public Health 2009, 9:324

10. Huot C, Paradis A , Hammond-Collins K , Bélair MA , Villeneuve5 J, Brousseau N, Goupil-Sormany I , Riffon J . A public health enhanced surveillance system for a mass gathering evento. Can Commun Dis Rep 2019;45(7/8):212–24. https://doi.org/10.14745/ccdr.v45i78a05

11. Riccardo F, Del Manso M, Caporali MG, Napoli C, Linge JP, Et all. Event-Based Surveillance During EXPO Milan 2015:Rationale, Tools, Procedures, and Initial Results. Health Security Vol 14, N 3, 2016 Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/hs.2015.0075

12. Leal Neto O, Dimech GS, Libel M, Vieira de Souza W, Cesse E, Smolinski M , Oliveira W, Albuquerque J.Saúde na Copa: The World's First Application of Participatory Surveillance for a Mass Gathering at FIFA World Cup 2014, Brazil. MIR Public Health Surveill. 2017 Apr-Jun; 3(2): e26.

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Original

Carga de Influenza asociadas a hospitalizaciones y muertes en Paraguay, 2011-2015

Bataglia S.[1], Von Horoch M.[1,2], Cabello A.[1,3], Penayo E.[1], Vazquez C. [1]

[1] Dirección General de Vigilancia de la Salud (DGVS)
[2] Hospital Central Instituto Previsión Social
[3] Instituto de Investigaciones en Ciencias de la salud (IICS.UNA)

RESUMEN

Estimar la incidencia de hospitalizaciones y muertes asociadas a Influenza en Paraguay. Se recopilaron semanalmente los datos sobre pacientes con infecciones respiratorias agudas graves ingresados en 10 hospitales centinelas. Se recolectaron muestras de hisopados nasales y orofaríngeos para pruebas de virus respiratorios. Las muestras fueron analizadas por PCR para influenza tipo A y B y las muestras positivas fueron sub tipificadas por transcripción inversa en tiempo real. La incidencia de IRAG asociada al virus de la influenza se estimó a partir de los datos de vigilancia y censos. Para estimar la incidencia de hospitalizaciones, utilizamos el porcentaje mensual de positividad para la influenza entre los casos de IRAG y el número de códigos IRA-10 de IRAG. Para generar la tasa de mortalidad, se utilizó el mismo procedimiento. Resultados: estimamos que 6.661 (95% CI 5658 - 7663) hospitalizaciones ocurrieron en todos los grupos etarios, lo que representa una incidencia de 20,3 / 100.000 habitantes. La mayor incidencia se produjo entre aquellos ≥65 años de edad (98,8 [IC 95%: 94,3 – 103,3] por 100.000 habitantes). Hubo 330 muertes relacionadas con influenza (IC 95%: 281-379) lo que representa una tasa de 1 por 100.000 personas por año, con la tasa más alta en adultos ≥65 años de edad (16,8 [IC 95%: 14,9 – 18,7] por 100.000 habitantes). Conclusión: las tasas de hospitalización y mortalidad asociadas a la influenza en nuestro estudio estuvieron dentro del rango de las estimadas para los países de ingresos medios, afectando especialmente a los muy jóvenes y los ancianos..

Palabras claves: carga, influenza, mortalidad.

ABSTRACT

Burden of Influenza associated with hospitalizations and death in Paraguay, 2011-2015

Estimate the incidence of hospitalizations and deaths associated with Influenza in Paraguay. Data were collected weekly on patients with severe acute respiratory infections (SARI) admitted to 10 sentinel hospitals. Collected, samples of nasal and oropharyngeal swabs for respiratory virus tests. Analyzed samples: PCR for influenza type A and B; positive samples subtyped by reverse transcription in real time. The incidence of SARI associated with influenza virus estimated from surveillance and census data. To estimate the incidence of hospitalizations, we use the monthly percentage of positive for influenza between cases of SARI and the number of ARI -10 SARI codes. To generate the mortality rate, used same procedure.
Results: we estimate that 6661 (95% CI 5658 - 7663) hospitalizations occurred in all age groups, which it represents an incidence of 20.3 / 100,000 inhabitants. The biggest incidence occurred among those ≥65 years of age (98.8 [95% CI: 94.3 - 103.3] per 100,000 inhabitants). There were 330 influenza-related deaths (95% CI: 281-379) representing a rate of 1 per 100,000 people per year, with the highest rate in adults ≥65 years of age (16.8 [95% CI: 14.9 - 18.7] per 100,000 inhabitants). Conclusion: hospitalization and mortality rates associated with influenza in our study were within the range of those estimated for middle-income countries, especially affecting the very young and the elderly.

Keywords: burden, influenza, mortality
Autor para correspondencia:
Dra. Martha Von Horoch. Dirección General de Vigilancia de la Salud
Correo electrónico: aguedacabello@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La influenza sigue siendo un importante problema de salud pública mundial. Se estima que las epidemias anuales de gripe representan de 3 a 5 millones de enfermedades graves y de 250.000 a 500.000 muertes en todo el mundo[1, 2]. Cheng et al[3] han estimado para el período 2002-2008 para los 35 países de la OPS una tasa de mortalidad media anual asociada a la influenza de 2,1 / 100.000 entre las personas <65 años, 31,9 / 100.000 entre las 65-74 años, y 161,8 / 100.000 entre ≥75 años. Las personas con mayor riesgo de complicaciones por la infección de la influenza son los jóvenes[4, 5], los ancianos[6] y aquellos con afecciones de salud preexistentes[7, 8].

Las estimaciones de la carga de influenza son esenciales para justificar los esfuerzos de prevención y controlar los efectos de la enfermedad[3, 9]. La carga de la influenza se entiende bien en las regiones templadas, principalmente en los Estados Unidos y Europa[10-14]. Los estudios realizados en algunos países de América Latina y el Caribe han contribuido al conocimiento global de la mortalidad y la morbilidad de la influenza[15-23], sin embargo, en Paraguay hay muy poca información disponible.

Desde 2010, el Ministerio de Salud de Paraguay (MSPBS) ha implementado la vigilancia activa de la influenza, basada en los estándares globales de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la vigilancia de la influenza[24]. Esta vigilancia se basa en el uso de dos síndromes parecidos, la enfermedad tipo influenza (ETI) e infección respiratoria aguda grave (IRAG), para monitorear las tendencias en la influenza. El objetivo de este análisis es estimar la incidencia de hospitalizaciones y muertes asociadas a la influenza en Paraguay durante 2011 - 2015 utilizando datos de manera prospectiva de la vigilancia centinela en el hospital.

MATERIAL Y MÉTODO

Cuestiones éticas

Este análisis utilizó datos de vigilancia de salud pública recopilados de forma rutinaria y, como tal, no está sujeto a una revisión ética. Todos los datos de vigilancia se mantuvieron confidenciales.

Sitio de Estudio

Paraguay es un país sudamericano con aproximadamente 6.7 millones de habitantes, en el cual el 97% de la población vive en la región oriental del país y el 41% vive en el área metropolitana. El país está dividido en 18 regiones administrativas de salud (Figura 1).

Figura 1. Regiones sanitarias paraguayas y distribución de centros centinela para la vigilancia de la influenza y otros virus respiratorios.

Programa de vigilancia de Influenza

El sistema de vigilancia centinela de la influenza se estableció en Paraguay en 2010, este programa de vigilancia activa, prospectiva y hospitalaria recopila datos epidemiológicos y virológicos detallados sobre la vigilancia de la influenza. El sistema se implementó en 10 sitios centinela en hospitales públicos: cinco para IRAG, tres para ETI y dos para vigilancia tanto de IRAG como de ETI. Los 10 sitios están ubicados en la parte oriental del país y se eligieron dada la alta concentración de la población en esta parte del país.

Definición de caso de IRAG

Un caso de IRAG se definió como una infección respiratoria aguda con antecedentes de fiebre, tos y hospitalización.

Criterios para la selección de muestras

Se recogieron muestras de casos de IRAG que tuvieron fiebre en los 7 días anteriores a la presentación; o cualquier caso IRAG admitido en la unidad de cuidados intensivos (UCI) o cualquier caso fatal de IRAG.

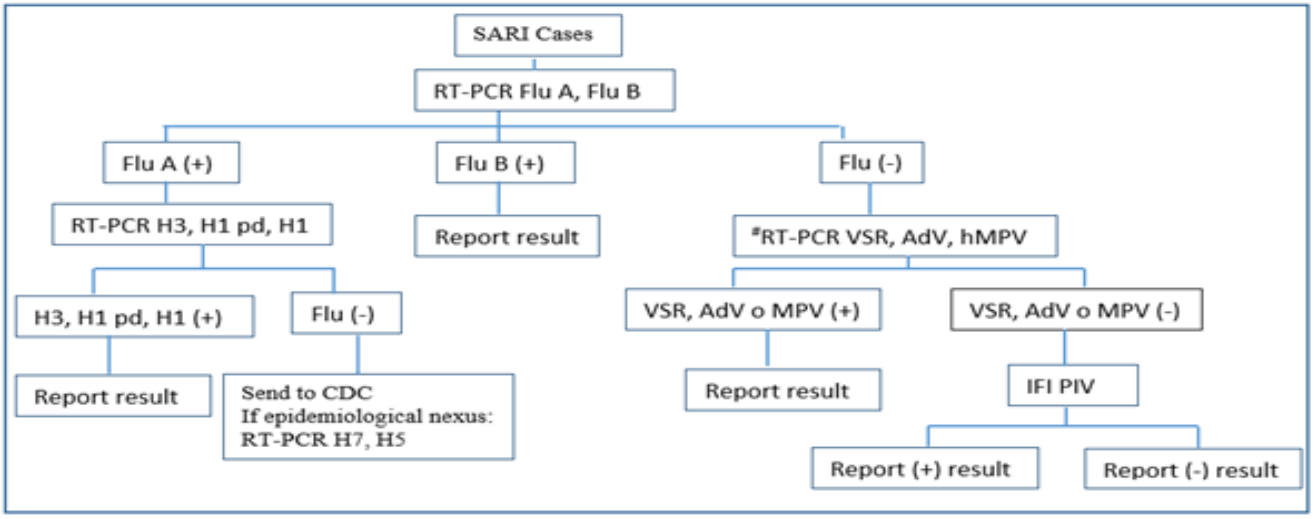
Prueba de Laboratorio

Recolección de la muestra: se recolectaron muestras de frotis nasal y faríngeo en un medio de transporte viral comercial, se preservaron a 4 °C y se enviaron refrigeradas al laboratorio nacional de referencia (LCSP) dentro de las 72 horas posteriores a la recolección para los casos de IRAG ingresados en la sala del hospital general. En pacientes ingresados en la UCI, se recogieron los aspirados nasofaríngeos, los aspirados traqueales y los lavados broncoalveolares, muestras que se mantuvieron y transportaron al laboratorio nacional en las mismas condiciones. Todas las muestras se fraccionaron en alícuotas para inmunofluorescencia, cultivo celular y pruebas molecula res en el laboratorio nacional.

≥65 años) entre los casos de IRAG. La proporción de casos de IRAG asociados a la influenza se calculó dividiendo el número de casos de IRAG con influenza positiva por el número total de casos de IRAG estratificados por grupo de edad y mes, durante el período 2011-2015.

Cálculo del número de casos y muertes por IRAG

La Dirección General de Información Estratégica de Salud (DIGIES) del MSPBS recopila información sobre la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10) sobre todas las muertes del sistema nacional de salud (público, privado y seguridad social) y los egresos hospitalarios del sistema nacional de salud pública (70% de cobertura poblacional).



#Durante los años 2011 a 2013 IFI RSV, AdV

Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de laboratorio.

Extracción de ARN viral: para la extracción de ARN viral, se utilizó el kit comercial QiaAmp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA, EE. UU.) de acuerdo con el protocolo del fabricante. El ARN obtenido se almacenó a -80 °C o se testó inmediatamente por RT-PCR.

Diagnóstico molecular de la influenza: la detección de influenza tipo A y B (IAV e IBV); y el subtipo de las muestras positivas para IAV se realizó mediante Transcripción Inversa en Tiempo Real y Reacción en Cadena de la Polimerasa (qRT-PCR) siguiendo el protocolo de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta / GA / USA.

Cálculo de la carga

Cálculo del porcentaje de positividad de influenza: Los datos de vigilancia viral se utilizaron para estimar la proporción de muestras de influenza positiva por mes y por año para tres grupos de edad diferentes (<5; 5 a <65 y

Además, se obtuvieron los egresos del hospital de la seguridad social (cobertura del 19% de la población), lo que arroja una cobertura total del 89%. Los códigos CIE-10 J09-22, que se consideran un aproximado a la IRAG, se estratificaron por los grupos de edad mencionados anteriormente y por mes de hospitalización, durante 2011-2015.

Estimación de la hospitalización asociada a influenza:

Para estimar la incidencia de hospitalizaciones asociadas a la influenza, el porcentaje mensual de positividad para la influenza entre los casos de IRAG se multiplicó por la cantidad mensual de códigos ICD-10 de la IRAG, y este producto se sumó para cada año, para generar una cantidad total de hospitalizaciones asociadas a influenza para el año. Este conteo fue dividido por la población del censo para llegar a una incidencia. Este cálculo se repitió para cada grupo de edad y año de interés. Para generar la tasa de

mortalidad, el número de muertes por IRAG asociadas a influenza se dividió por las proyecciones de censo más recientes, para cada año y grupo de edad, utilizando el mismo procedimiento que para las hospitalizaciones.

Todas las tasas con sus intervalos de confianza del 95% se expresaron como 100.000 habitantes.

RESULTADO

IRAG caso-pacientes bajo vigilancia

Entre enero de 2011 y diciembre de 2015, n = 27.189 casos de IRAG fueron capturados por el sistema de vigilancia IRAG, de los cuales n = 20.323 (75%) pacientes fueron analizados para detectar virus respiratorios; de estos, el 61% (n = 12.397) eran niños menores de 5 años; 27% (n = 5487) de 5 a 64 años y 12% (n = 2439) de edad ≥65 años. El porcentaje general de casos de IRAG con influenza positiva fue del 8% (n = 1.660); 4,2% para el grupo de menores de 5 años; 15,5% para 5 a 64 años y 11,8% para 65 años y más (valor de p <0,0001).

El porcentaje de positividad para IRAG e influenza mostraron patrones similares (Figura 2A, 2B y 2C), con actividad máxima durante el invierno en el hemisferio sur (mayo y septiembre). Los patrones fueron más similares entre los mayores de cinco años.

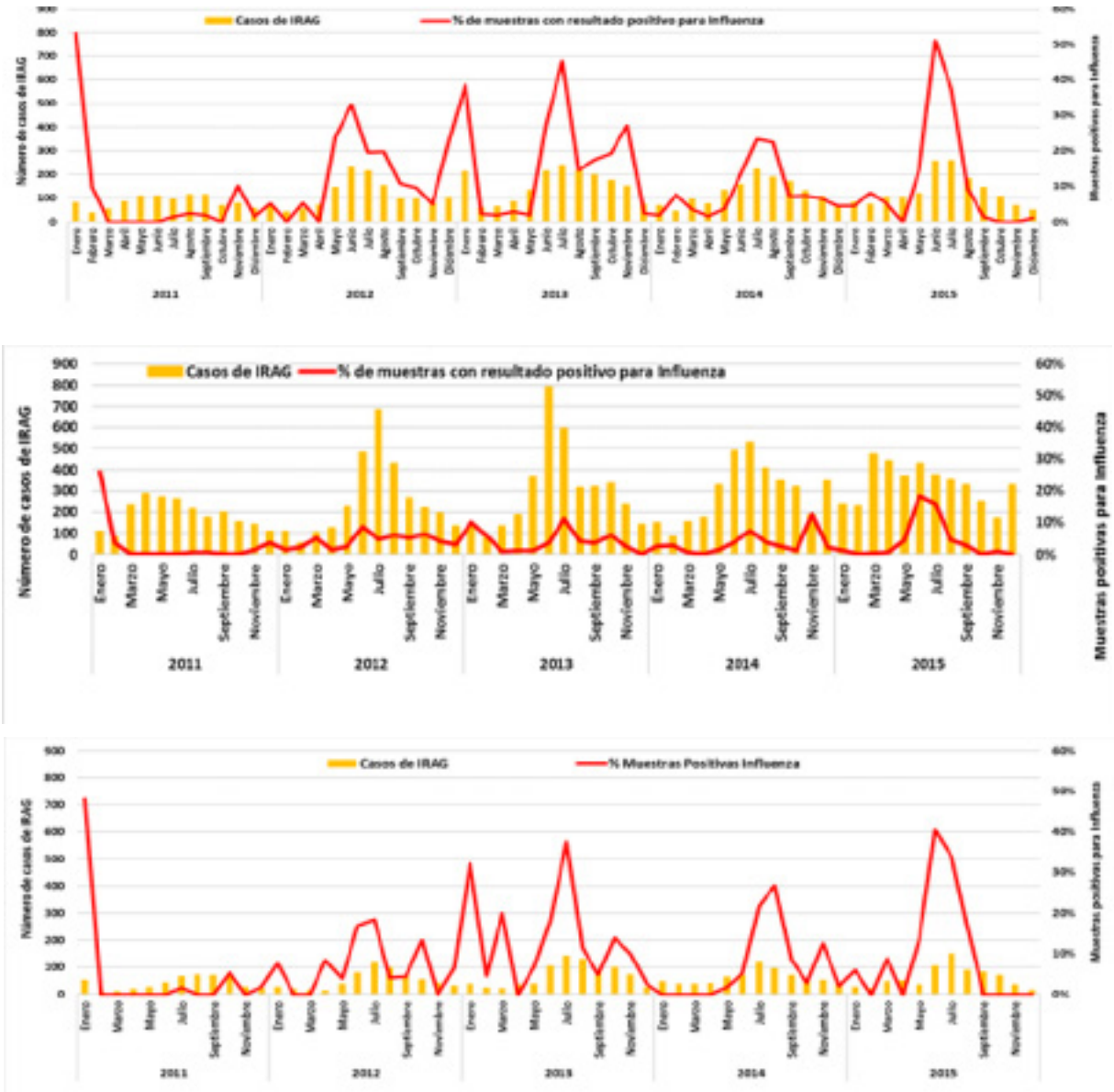


Figura 3. Número de casos notificados de IRAG y tasa de positividad del virus de la influenza por mes y año en tres grupos de edad en Paraguay, 2011-2015: A: <5 años; B: 5 - 64 años y C: ≥65 años.

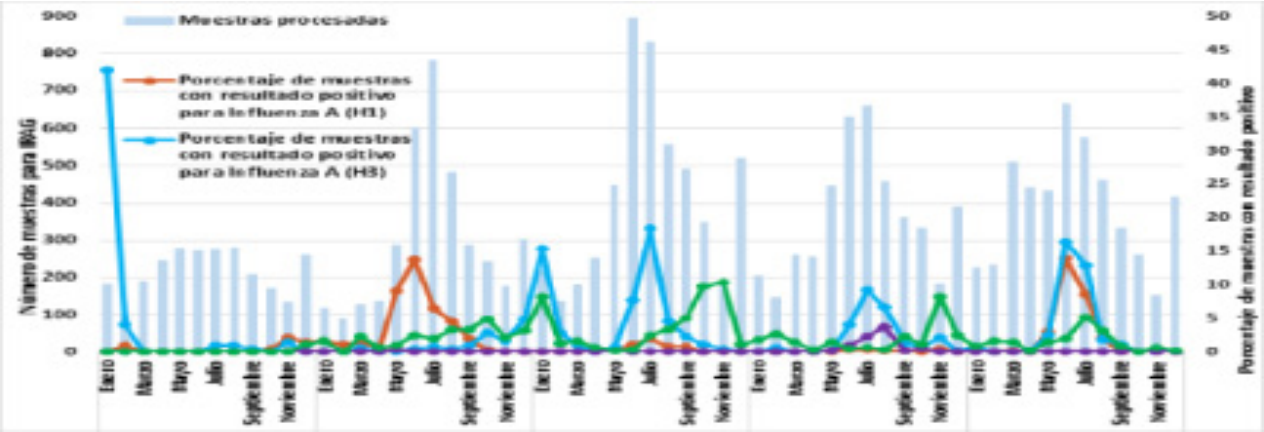


Figura 3. Distribución de muestras analizadas y tasas de positividad del virus de la influenza

Durante 2011-2015, la circulación de la influenza A (H3N2) fue continua, al igual que la circulación de la influenza B (Figura 3). Influenza A (H1N1) pdm09 predominó en 2012 y durante 2011, la positividad de la influenza fue baja en general (Figura 3).

Durante el período de análisis, se identificaron n = 87.678 J09-22 códigos de alta hospitalaria. De estos, n = 42.609 (49%) eran menores de 5 años y 17.394 (19.8%) tenían 65 años o más. Durante este período, 4.277 (4,8%) personas murieron, de estas 69% (2 904) tenían 65 años o más, seguidas de las de 5 a 64 años con 20% (840) (valor de p <0,0001).

Hospitalización con diagnóstico de Influenza

Estimamos que 6.661 (95% CI 5 658 - 7 663) hospitalizaciones asociadas a la influenza ocurrieron en todos los grupos de edad, lo que representa una incidencia de hospitalización de 20,3 / 100.000 habitantes. La incidencia promedio más alta se produjo entre las personas de 65 años y más (98,8 [IC 95%: 94,3 - 103,3] por 100.000 habitantes, que fue significativamente más alta (valor de p <0,001; O: 6,9) que entre los de 5 a 64 años (14,1 [IC 95%: 13,7-14,6] por 100.000 habitantes. La incidencia promedio entre aquellos <5 años fue de 49,5 (IC del 95%: 47,1 - 51,8) por 100.000 habitantes), que fue significativamente mayor (valor de p <0,001; OR: 3,5) que en el grupo de edad de 5 a 64 años.

Estimamos que durante el período 2011-2015, hubo 330 muertes asociadas a la influenza (IC 95%: 281-379), lo que representa una tasa de 1 por 100.000 personas por año. La tasa más alta de mortalidad asociada a la influenza ocurrió en adultos de 65 años de edad y mayores (16,8 [IC 95%: 14,9 – 18,7] por 100.000 personas por año) que fue significativamente mayor (p <0,001; OR: 36,1) que en el grupo de 5 a 64 años (0,4 [IC 95%: 0,3 - 0,5] por cada 100.000 personas). La tasa de mortalidad asociada a la influenza en adultos de 65 años y más fue significativamente más alta (p<0,001; OR: 29,3) que en el grupo de edad menor de 5 años (0,5 [IC 95%: 0,3 - 0,8] por cada 100.000 personas).

Tabla 1. Incidencia de hospitalizaciones asociadas a influenza y muertes por grupo de edad y año en Paraguay. Período 2011-2015

Grupo de edad	Infección Respiratoria Aguda Grave			Hospitalizaciones asociadas a Influenza		Muestes asociadas a Influenza	
	N° de hospitalizaciones[1]	N° de muertes[2]	Influenza (+)[3]	N° de hospitalizaciones (IC 95%)	Tasa x 100.000[4] (IC 95%)	N° de muertes (IC 95%)	Tasa x 100.000[5] (IC 95%)
2011							
< 5 años	8.976	110	0,02	182 (61 - 302)	26,1 (22,3 - 29,9)	4 (2 - 7)	0,6 (0 - 1,2)
6 a 64 años	5.830	220	0,06	408 (214 - 602)	7,6 (6,9 - 8,4)	23 (13 - 32)	0,4 (0,2 - 0,6)
≥ 65 años	3.122	678	0,07	241 (140 - 343)	69,4 (60,6 - 78,1)	44 (25 - 62)	12,5 (8,8 - 16,2)
2012							
< 5 años	9.045	108	0,05	453 (184 - 722)	65 (59 - 71)	5 (2 - 8)	0,7 (0 - 1,3)
6 a 64 años	6.551	183	0,18	1.000 (582 - 14	18,4 (17,3 - 19,6)	29 (17 - 40)	0.5 (0,3 - 0,7)
≥ 65 años	3.505	529	0,1	285 (37 - 532)	79,3 (70,1 - 88,6)	44 (5 - 83)	12,2 (8,6 - 15,8)
2013							
< 5 años	9.346	93	0,05	453 (234 - 672)	65 (59 - 70,9)	4 (2 - 6)	0,6 (0 - 1,1)
6 a 64 años	5.831	138	0,19	1.119 (761 - 1	20,3 (19,1 - 21,5)	29 (21 - 38)	
≥ 65 años	3.777	574	0,15	560 (226 - 894)	151,2 (138,7 -)	83 (35 - 139)	23,4 (18,5 - 28,4)
2014							
< 5 años	6.702	77	0,04	265 (109 - 421	37,9 (33,3 - 42,1)	3 (0 - 5)	0,4 (0 - 0.8)
6 a 64 años	4.474	134	0,1	441 (195 - 687)	7,9 (7,1 - 8,6)	13 (6 - 20)	0,2 (0,1 - 0,3)
≥ 65 años	3497	474	0,08	305 (94 - 516)	79,5 (70,6 - 88,4)	38 (12 - 65)	10 (6,8 - 13,2)
2015 6 a 64 años							
< 5 años	8.540	85	0,05	416 (225 - 577)	59,3 (53,6 - 65)	4 (2 - 5)	0,5 (0 - 1,1)
6 a 64 años	4.989	165	0,2	701 (488 - 914)	12,3 (11,4 - 13,39)	28 (21 - 25)	0,4 (0,3 - 0,6)
≥ 65 años	3.493	649	0.18	451 (245 - 656)	113,3 (102,9 -)	87 (48 - 127)	21,9 (17,3 - 26,5)
Total del periodo 2011 - 2015							
< 5 años	42.609	473	0,04	1.727 (1.257 - 2	49,5 (47,1 - 51,8)	20 (14 - 25)	0,5 (0,3 - 0,8)
6 a 64 años	27.675	840	0,16	3.888 (3.095 - 4	14,1 (13,7 - 14,6)	128 (103 - 152)	0,4 (0,3 - 0,5)
≥ 65 años	17.394	2.904	0,12	1.836 (1.197 - 2	98,8 (94,3 - 103,3)	313 (206 - 420)	16,8 (14,9 - 18,7)

[1] Número de personas hospitalizadas durante 2011–2015 con diagnóstico indirecto de infección respiratoria aguda grave (IRAG) (códigos CIE-10 J9-22)

[2] Número de muertes entre las personas hospitalizadas durante 2011–2015 con diagnósticos de proxy IRAG (códigos CIE-10 J9-22)

[3] Número de muestras anualmente positivas para influenza a través de inmunofluorescencia y reacción en cadena de la polimerasa sobre el número total analizado (porcentaje)

[4] Estimado por el producto de la proporción de muestras con resultado positivo de influenza y el número de personas hospitalizadas con IRAG por grupo de edad y mes (Intervalo de Confianza del 95%). Tasa por 100.000 habitantes.

[5] Estimado por el producto de la proporción de muestras con resultado positivo de influenza y el número de personas que mueren por grupo de edad y mes (Intervalo de Confianza del 95%). Tasa por 100.000 habitantes

DISCUSIÓN

Según nuestro conocimiento, este estudio es el primero en estimar la incidencia de hospitalizaciones y muertes relacionadas con la influenza en Paraguay. Durante el período 2011–2015, se estimó que la influenza contribuyó a aproximadamente 281–379 muertes y 5658 –7 663 hospitalizaciones en Paraguay. Los niños menores de cinco años y adultos mayores fueron los más comúnmente hospitalizados debido a una infección de influenza; y los adultos mayores con mayor frecuencia murieron a causa de la gripe.

En este estudio, la tasa de hospitalización asociada a la influenza en niños menores de 5 años fue similar a la tasa entre niños menores de 5 años reportados por otros estudios de los Estados Unidos y Australia[24-29].

En este estudio, atribuimos una fracción de la codificación CIE-10 de las hospitalizaciones y muertes con a la influenza, un método que se ha utilizado para estimar la carga de la enfermedad en otros países. Al comparar nuestros resultados con otros países que utilizaron el mismo método, como Costa Rica [9], nuestros resultados fueron más altos, lo que posiblemente se puede explicar por el mejor acceso a la atención médica en Costa Rica que brinda el sistema de salud centralizado y que cubre al 95% de la población.

Usando una metodología similar, entre los cinco países de América Central[18], las estimaciones de la carga también fueron más altas que nuestras tasas, lo que podría explicarse por la vigilancia activa basada en la población utilizada por El Salvador, Nicaragua, Guatemala y, por lo tanto, un mayor porcentaje de positividad para la influenza, lo que lleva a más casos atribuidos a la gripe. Además, los datos del denominador fueron más precisos en estas estimaciones debido al uso de encuestas de utilización de la atención médica para determinar las áreas de captación[15-17,31-33].

Por otro lado, un estudio realizado en Argentina estimó tasas de incidencia ligeramente más bajas; este estudio informó una tasa más alta en personas mayores hospitalizadas (> 65 años), similar a estudios anteriores[6,34-32].

Nuestra estimación de mortalidad hospitalaria asociada a la influenza fue similar a la informada anteriormente en la región de la OPS, Estados Unidos, México, Brasil y Costa Rica, donde se observó la tasa más alta en los > 65 años de edad[3, 9, 33-35].

Hubo varias limitaciones para este análisis. En primer lugar, solo el 80% de los casos de IRAG se analizaron para detectar la influenza, que podría no proporcionar la carga exacta de la influenza, si los casos muestreados difirieran de los que no fueron muestreados. En segundo lugar, utilizamos un proxy de los códigos CIE-10 para la influenza, que podría no capturar completamente la carga de la influenza. Finalmente, solo el 89% de la población estaba cubierta con la base de datos del alta hospitalaria y, como tal, nuestra tasa más baja podría explicarse por datos no informados a nivel institucional, así como por un menor acceso a los servicios de salud de la población [30].

Las tasas de hospitalización y mortalidad asociadas a la influenza en nuestro estudio estuvieron dentro del rango de las estimadas para los países de ingresos medios, afectando particularmente a los muy jóvenes y los ancianos. Por lo tanto, los esfuerzos y las estrategias de prevención deben centrarse en los programas de vacunación para lograr una alta cobertura en estas poblaciones específicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. Influenza (estacional). 2015 [consultado el 13 de mayo de 2015]. Disponible en: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/

2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Mortalidad mundial y regional por 235 causas de muerte en 20 grupos de edad en 1990 y 2010: un análisis sistemático para el Estudio de la carga mundial de la enfermedad 2010. Lancet. 15 de diciembre de 2012; 380 (9859): 2095-128. doi: 10.1016 / S0140-6736 (12) 61728-0.

3. Cheng P-Y, Palekar R, Azziz-Baumgartner E, et al. La carga de muertes asociadas a la influenza en las Américas, 2002–2008. Gripe y otras Infecciones por virus respiratorios en personas con afecciones crónicas subyacentes. Jama 2000; 283: 499–505.

4. Schanzer DL, Langley JM, Tam TW. Las comorbilidades asociadas con la mortalidad atribuida a la influenza, 1994-2000, Canadá. Vacuna. 2008; 26: 4697–4703.

5. Saborío G, Clara A, García A, Quesada F, Palekar R, Minaya P, et al. Hospitalizaciones y muertes asociadas a la influenza, Costa Rica, 2009-2012. Emerg Infect Dis. 2014; 20 (5): 878-881. https://dx.doi.org/10.3201/eid2005.131775

6. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. Actualización: actividad de influenza en Estados Unidos y en todo el mundo, del 22 de mayo al 3 de septiembre de 2011. MMWR. 2011; 60: 1239-1242

7. Boggild AK, Yuan L, DE bajo, McGeer AJ. El impacto

de la gripe en las Primeras Naciones canadienses. Can J Salud Pública. 2011; 102: 345–348.

8. Chan PA, Mermel LA, Andrea SB, McCulloh R, Mills JP, Echenique I, Leveen E, Rybak N, Cunha C, Machan JT, Healey TT, Chapin KC. Características distintivas entre la influenza pandémica 2009-2010 A (H1N1) y otros virus en pacientes hospitalizados con enfermedades respiratorias. Más uno. 2011; 6: e24734. doi: 10.1371 / journal.
pone.0024734.

9. Presanis AM, Pebody RG, Paterson BJ, Tom BD, Birrell PJ, Charlett A, Lipsitch M, De Angelis D. Cambios en la gravedad de la pandemia de influenza A / H1N1 2009 en Inglaterra: una síntesis de evidencia bayesiana. BMJ. 2011; 343: d5408. doi: 10.1136 / bmj.d5408

10. Antonova EN, Rycroft CE, Ambrose CS, Heikkinen T, Principi N. Burden de la influenza pediátrica en Europa occidental: una revisión sistemática. BMC Public Health 2012; 12: 968 DOI: 10.1186 / 1471-2458-12-968

11. Clara W, Armero J, Rodríguez D et al. Incidencia estimada de neumonía grave asociada al virus de la influenza en niños en El Salvador, 2008-2010. Bull World Health Organ 2012; 90: 756–763.

12. Gordon A, Saborio S, Videa E, et al. Tasa de ataque clínico y presentación de influenza pandémica H1N1 versus influenza estacional A y B en una cohorte pediátrica en Nicaragua. Clin Infect Dis 2010; 50: 1462-1467.

13. Fuller JA, Summers A, Katz MA y otros. Estimación de la carga nacional de enfermedad de la enfermedad respiratoria aguda aguda asociada a la influenza en Kenia y Guatemala: una metodología novedosa. PLoS ONE 2013; 8: e56882.

14. Descalzo MA, Clara W, Guzmán G, Mena R, Armero J, Lara B, et al. Estimación de la carga de hospitalizaciones y muertes asociadas a la influenza en América Central. Influenza otros virus respiratorios. Julio de 2016; 10 (4): 340-5. doi: 10.1111 / irv.12385.

15. Azziz-Baumgartner et al. (2012) Incidencia de mortalidad y hospitalizaciones asociadas a la influenza en Argentina durante 2002–2009. Gripe y otros virus respiratorios DOI: 10.1111 / irv.12022.

16. Azziz-Baumgartner E, Cabrera AM, Chang L, Calli R, Kusznierz G, Baez C, et al. Mortalidad, infección respiratoria aguda grave y enfermedad similar a la influenza asociada con influenza A (H1N1) pdm09 en Argentina, 2009. PLoS One. 2012; 7 (10): e47540. doi: 10.1371 / journal.pone.0047540. PubMed PMID: 23118877; PubMed Central PMCID: PMC3485247.

17. Freitas FT, Souza LR, Azziz-Baumgartner E, Cheng PY, Zhou H, Widdowson MA, Shay DK, Oliveira WK, Araujo WN. El exceso de mortalidad asociada a la influenza en el sur de Brasil, 1980-2008. Epidemiol Infect. 2013 agosto; 141 (8): 1731-40. Doi: 10.1017 / S0950268812002221. PubMed PMID: 23040669. Epub 2016 Mar

18. Razuri et al. Estudios de cohortes de vigilancia activa basados en la población para la influenza: lecciones de Perú. Bull World Health Organ 2012; 90: 318–320.

19. Tinoco YO, Azziz-Baumgartner E, Rázuri H, Kasper MR, Romero C, Ortiz E, et al. Una estimación basada en la población de la carga económica de la influenza en Perú, 2009-2010. Influenza otros virus respiratorios. Julio de 2016; 10 (4): 301-9. doi: 10.1111 / irv.12357. Epub 2016 29 de enero.

20. Organización Mundial de la Salud Globa. Estándares de Vigilancia Epidemiológica para Influenza.2014. http://www.who.int/influenza/resources/documents/WHO_Epidemiological_Influenza_Surveillance_Standards_2014.pdf?ua=1

21. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. CDC Realtime RTPCR (rRTPCR) Protocolo para la detección y caracterización de la influenza porcina (versión 2009) www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptpcr/en/index.html

22. Dirección General de Estadísticas, Encuestas y Censos DGEEC- Secretaria Técnica de Planificación de la Presidencia de la República. Proyección de la Población Nacional, Áreas Urbana y Rural por Sexo y Edad, 2000-2025 Revisión 2015, Paraguay.

23. Brotherton J, McIntyre P, Puech M, et al. Enfermedades prevenibles por vacunación y cobertura de vacunación en Australia, 2001 a 2002. Commun Dis Intell 2004; 28 supl 2: vii-S116

24. D'Onise K (1), Raupach JC. La carga de la influenza en niños sanos en el sur de Australia. Med J Aust. 2008 5 de mayo; 188 (9): 510-3.

25. Poehling KA (1), Edwards KM, Griffin MR, Szilagyi PG, Staat MA, Iwane MK, et al. La carga de la gripe en niños pequeños, 2004-2009. Pediatría. 2013 Feb; 131 (2): 207-16. doi: 10.1542 / peds.2012-1255. Epub 2013 6 de enero.

26. Iwane MK (1), Edwards KM, Szilagyi PG, Walker FJ, Griffin MR, Weinberg GA, y otros. Vigilancia poblacional de las hospitalizaciones asociadas con virus sincitial respiratorio, virus de la influenza y virus de la parainfluenza en niños pequeños. Pediatría. Junio de 2004; 113 (6): 1758-64.

27. Dawood FS, Fiore A, Kamimoto L, et al. Carga de la hospitalización por influenza de temporada en niños, Estados Unidos, 2003 a 2008. J Pediatr 2010ª; 157: 808-14.

28. Lafond KE, Nair H, Rasooly MH, Valente F, Booy R, Rahman M, et al. (2016) Función y carga global de la influenza en hospitalizaciones respiratorias pediátricas, 1982–2012: un análisis sistemático. PLoS Med 13 (3): e1001977. doi: 10.1371 / revista. pmed.1001977

29. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social; Dirección General de Estadísticas, Encuestas y Censos; Organización Panamericana de la Salud; Organización Mundial de la Salud. Exclusión social en salud. Paraguay Análisis a nivel nacional y regional popular. 2007.

30. Brooks WA, Goswami D, Rahman M, Nahar K, Fry AM, Balish A y otros. La influenza es un importante contribuyente a la neumonía infantil en un país tropical en desarrollo. Pediatr Infect Dis J 2010; 29: 216–21.

31. Broor S, Parveen S, Bharaj P, Prasad VS, Srinivasulu KN, Sumanth KM et al. Un estudio de cohorte prospectivo de tres años sobre la epidemiología y la virología de las infecciones respiratorias agudas de niños en la India rural. PLoS ONE 2007; 2: e491

32. Al-Awaidy S, Hamid S, Al Obaidani I, Al Baqlani S, Al Busaidi S, Bawikar S, et al. La carga de hospitalizaciones asociadas a la influenza en Omán, enero de 2008-junio de 2013. PLoS ONE 10 (12): e0144186. doi: 10.1371 / journal.pone.0144186

33. Ang L, Lim C, Lee V, Ma S, Tiong W, Ooi P, et al. Hospitalizaciones asociadas a la influenza, Singapur, 2004-2008 y 2010-2012. Emerg Infect Dis. 2014; 20 (10): 1652-1660. https://dx.doi.org/10.3201/eid2010.131768

34. Newall AT (1), Wood JG, Macintyre CR Hospitalización relacionada con la influenza y muerte en australianos de 50 años o más. Vacuna. 2008 16 de abril; 26 (17): 2135-41. doi: 10.1016 / j.vaccine.2008.01.051. Epub 2008 15 de febrero.

35. Lenglet AD, Hernando V, Rodrigo P, Larrauri A, Donado JD, de Mateo S. Impacto de la gripe en los ingresos hospitalarios durante 4 temporadas de gripe en España, 2000–2004. BMC Salud Pública. 2007; 7: 197. doi: 10.1186 / 1471-2458-7-197.

36. Upshur RE, Goel V. Medición del impacto de la influenza en las tasas de ingreso en el hospital de ancianos en Ontario: un análisis de la tasa de ingreso de cinco años, 1988-1993. Can J Salud Pública. 2000; 91: 144–147.

37. Nguyen-Van-Tam JS, Brockway CR, Pearson JC, Hayward AC, Fleming DM. Ingresos hospitalarios en exceso por neumonía e influenza en personas> o = 65 años asociados con epidemias de influenza en tres distritos de salud en inglés: 1987-95. Epidemiol Infect. 2001; 126: 71–79.

38. Simonsen L, Fukuda K, Schonberger LB, Cox NJ. El impacto de las epidemias de gripe en las hospitalizaciones. J Infect Dis. 2000; 181: 831–837. Doi: 10.1086 / 315320.

39. Charu V, Chowell G, Palacio Mejia LS, Echevarría-Zuno S, Borja-Aburto VH, Simonsen L, et al. Carga de mortalidad de la pandemia de A / H1N1 en México: una comparación de las muertes y los años de vida perdidos por la influenza estacional. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2011; 53 (10): 985–93

40. Ng S, Gordon A, carga y transmisión de influenza en los trópicos Curr Epidemiol Rep (2015) 2: 89–100 DOI 10.1007 / s40471-015-0038-4

41. Freitas ARR, Francisco PMSB, Donalisio MR. Mortalidad asociada con la influenza en los trópicos, estado de São Paulo, Brasil, de 2002 a 2011: los períodos prepandémico, pandémico y pospandémico. Investigación y tratamiento de la influenza. 2013; 2013: 696274. Doi: 10.1155 / 2013/696274.

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Original

Caracterización molecular del virus dengue aislados en pacientes con diferentes manifestaciones clínicas. Paraguay, 2007

Vázquez C[1], Coluchi N[1], Stella V[1], Probst C[1], Candia C[1], Duarte dos Santos C[1]

[1] Departamento de Virología. Laboratorio Central de Salud Pública. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.

RESUMEN

Paraguay registró epidemias de dengue por DEN1 en los años 1989 - 2000, y pequeños brotes por DEN2 y/o DEN3 en los siguientes años, sin reporte de FHD ni muertes por dengue hasta 2005. De 2006 a 2007, DEN3 provocó una epidemia con más de 28.000 casos, aparición de FHD, formas severas con manifestaciones atípicas y muertes por Dengue. Para caracterizar el genoma de virus DEN3 aislados de pacientes con diferentes perfiles clínicos y detectar posibles marcadores moleculares; determinamos la secuencia genómica completa de tres virus aislados de un caso fatal FHD, un caso Fiebre Dengue y un caso fatal de dengue primario con manifestaciones atípicas del año 2007 respectivamente. Adicionalmente, un aislado de caso FD de 2006 fue incluido. Comparadas con DEN3 (BR-03/290, DF) como referencia, mostraron correspondencia al Genotipo III similar a los DEN3 aislados anteriormente en Paraguay e identificamos103 mutaciones nucleotídicas, 91 de ellas compartidas por todos los virus paraguayos siendo 15 no sinónimas. El aislado de caso atípico presentó una mutación no sinónima en la posición 1731 que corresponde a la proteína de Envoltura (E), en tanto que el aislado de caso FHD una mutación en la posición 7644 correspondiente a la proteína no estructural 5 (NS5). Los virus aislados en 2007 comparados con el aislado en 2006, no presentaron otras mutaciones no sinónimas. Mutaciones puntuales en la proteína E pueden estar asociadas con modificación en la virulencia, por tanto estudios estructurales y funcionales posteriores permitirán dilucidar las implicaciones de las mutaciones encontradas en este estudio.

Palabras claves: dengue, epidemia, serotipos, Paraguay

ABSTRACT

Burden of Influenza associated with hospitalizations and death in Paraguay, 2011-2015

Paraguay recorded epidemics of dengue due to DEN1 in the years 1989 - 2000, and small outbreaks due to DEN2 and / or DEN3 in the following years, without FHD reports or deaths due to dengue until 2005. From 2006 to 2007, DEN3 caused an epidemic with more of 28,000 cases, appearance of FHD, severe forms with atypical manifestations and deaths from Dengue. To characterize the genome of DEN3 virus isolated from patients with different clinical profiles and detect possible molecular markers; We determined the complete genomic sequence of three viruses isolated from a fatal case FHD, a case Dengue Fever and a fatal case of primary dengue with atypical manifestations of the year 2007 respectively. Additionally, a 2006 FD case isolate was included. Compared to DEN3 (BR-03/290, DF) as a reference, they showed correspondence to Genotype III similar to the DEN3 previously isolated in Paraguay and we identified 103 nucleotide mutations, 91 of them shared by all the Paraguayan viruses being 15 not synonymous. The atypical case isolate presented a non-synonymous mutation at position 1731 that corresponds to the envelope protein (E), while the FHD case isolate a mutation at position 7644 corresponding to non-structural protein 5 (NS5). The viruses isolated in 2007 compared to the virus isolated in 2006, did not show other non-synonymous mutations. Point mutations in protein E may be associated with virulence modification, therefore subsequent structural and functional studies will elucidate the implications of the mutations found in this study.

Keywords: dengue, epidemic, serotypes, Paraguay

Autor para correspondencia:
Dra. Cynthia Vázquez. Laboratorio Central de Salud Pública y Bienestar Social. Asunción
Correo electrónico: cynthiavlm@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

El dengue, que está considerado la arbovirosis más importante en países tropicales, es causado por los 4 serotipos del virus dengue (DEN-1, -2, -3 y -4) y transmitida al hombre a través de la picadura de mosquitos. El dengue representa actualmente uno de los principales problemas de salud pública en el mundo y se estima que anualmente ocurren al menos 100 millones de infecciones por dengue en todo el mundo; entre los infectados, cerca de 550 mil necesitan hospitalización y unos 25 mil mueren de la enfermedad[1-4].

El espectro clínico de las infecciones por dengue, abarca desde la fiebre dengue (FD) autolimitada, hasta las formas más severas de la enfermedad como el dengue hemorrágico(FHD) y el síndrome de shock por dengue (SSD), las cuales, sin tratamiento adecuado pueden conducir a la muerte.4 Recientemente se han observado manifestaciones clínicas inusuales y complicaciones, caracterizadas por encefalopatías, hepatomegalia con falla hepática fulminante, disfunción sistólica, encefalomielitis diseminada aguda y otras.5-9 La variación de la sintomatología del dengue puede estar ocasionada tanto por factores virales como inmunológicos.10,11 En numerosos estudios se ha observado, que infecciones secuenciales o secundarias por virus dengue, tienden a producir cuadros severos.12-16 Se han postulado otros factores relevantes en la patogénesis del FHD: virus de cepas específicas virulentas, 17-19 predisposición genética a enfermedad severa en ciertas poblaciones;20, 21 y otros factores de riesgo como edad, sexo y estado nutricional.22-24 Aunque estas hipótesis no son totalmente exclusivas, y se cree que varias de ellas podrían estar involucradas en el desarrollo de formas severas de la enfermedad, recientes eventos sugieren la importancia de los factores virales, especialmente aquellos relacionados al DEN-3 genotipo III[7, 25-28].

Genéticamente, el dengue es un virus de ARN positivo de simple cadena con aproximadamente 11kb de longitud. Su genoma contiene un marco de lectura abierto simple que codifica una poliproteína precursora, y es flanqueado por dos regiones no traducidas (5' y 3'NTR). Mediante modificaciones co y post traduccionales del precursor, se forman tres proteínas no estructurales, la nucleocapside (C), la envoltura (E) y la membrana (M); y 7 proteínas no estructurales NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, y NS5.28 Varios estudios enfocados en las bases moleculares de la patogénesis, han atribuido determinantes de virulencia a mutaciones en proteínas estructurales y no estructurales, así como en las regiones NTR del genoma de los flavivirus[19, 30-32, 50].

Luego de dos grandes epidemias debidas al DEN-1 en los años 1989 y 2000; y de un pequeño brote de DEN-2 en el 2001,33, 34 el DEN-3 fue introducido por primera vez en Paraguay en el año 2002, proveniente de Rio de Janeiro Brasil. 35, 36 En los años 2003 y 2004 fue tambiénde Janeiro Brasil. 35, 36 En los años 2003 y 2004 fue tambiénconfirmada la circulación de DEN-3 en el país, durante brotes de mediana magnitud. Todos los cuadros clínicos reportados hasta entonces correspondieron a FD sin casos fatales. Más recientemente, durante prácticamente todo el año 2006 fueron notificados casos de dengue, siendo aislado exclusivamente el serotipo 3, sin ningún caso de FHD/SSD. A partir de enero del 2007, hubo un aumento considerable en el número de casos, con una epidemia explosiva en la cual el DEN-3 era aún el único serotipo detectado. Sin embargo a diferencia de lo observado el año anterior, casos de DHF/DSS y muertes por dengue comenzaron a ser reportados. Además, análisis de anatomía patológica de algunos casos fatales, diagnosticados como dengue primario por pruebas laboratoriales, no reunían requisitos para un diagnóstico de FHD/SSD. Estos casos presentaron manifestaciones atípicas con miocarditis, neumonitis, hepatitis y afectación del sistema nervioso central en algunos; siendo la causa de muerte choque cardiogénico (Bellasai J. datos no publicados).

Dado que la diversidad genética del virus podría influir en la severidad de la patología, nuestro objetivo fue caracterizar el genoma de los virus dengue aislados durante la epidemia del 2007, en muestras de pacientes con diferentes perfiles clínicos y detectar potenciales marcadores moleculares de virulencia entre ellos

MATERIALES Y METODOS

Fueron utilizadas las definiciones de caso probable y confirmado propuestas por la Organización Mundial de la Salud para FD, FHD y SSD.1 Para el estudio fueron seleccionadas muestras de 3 pacientes sin patologías de base, con manifestaciones clínicas bien diferenciadas, obtenidas durante la epidemia de dengue del año 2007 en Paraguay. Las muestras consistieron en: suero y macerado de bazo de un caso fatal con diagnóstico probable de FHD, suero de un caso fatal con diagnóstico probable de FD primario severo con manifestaciones atípicas y suero de un paciente con diagnóstico probable de FD típico. Se incluyó también suero de un paciente con FD confirmado en el 2006.

Metodologia Serologica

MAC-ELISA: con protocolo del CDC de Puerto Rico37, 38, utilizando una mezcla de los cuatro antígenos de Dengue producidos en el Laboratorio Central de Salud Pública de Paraguay y en el Instituto Evandro Chagas de Brasil, fue realizado para la detección de anticuerpos IgM contra dengue en las muestras de suero de pacientes con 5 o más días de evolución desde el inicio de síntomas.

ELISA IgG: fue realizado de acuerdo a recomendaciones del fabricante, mediante el kit comercial "Dengue Fever Virus IgG Dx Select" (Focus Diagnostics Cypress, CA, USA) para caracterizar la respuesta inmune de los pacientes como primaria o secundaria. Títulos menores a 100 en muestras agudas (menos de 5 días de evolución) y menores 2.560 en muestras convalecientes (≥ 5 días de evolución) fueron consideradas infecciones primarias. nes del fabricante, mediante el kit comercial "Dengue Fever Virus IgG Dx Select" (Focus Diagnostics Cypress, CA, USA) para caracterizar la respuesta inmune de los pacientes como primaria o secundaria. Títulos menores a 100 en muestras agudas (menos de 5 días de evolución) y menores 2.560 en muestras convalecientes (≥ 5 días de evolución) fueron consideradas infecciones primarias.

ELISA NS1: fue realizado para detectar proteína viral NS1 de virus dengue en muestras de todos los pacientes estudiados. Se utilizó el kit comercial "Platelia Dengue NS1 Ag (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France)" que consiste en un ELISA formato sandwich de un paso que utiliza anticuerpo monoclonal de ratón (MAb) para captura y revelación. Si el antígeno NS1 está presente en el suero, se forma un inmunocomplejo MAb-NS1-MAb/peroxidasa. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Aislamiento viral

La muestra de bazo recogida en Medio Esencial Mínimo (MEM) y las muestras de suero; fueron inoculados en células C6/36 de Aedes albopictus con MEM más 2% de suero fetal bovino.39 Luego de 14 días de incubación a 28ºC, se recogieron los sobrenadantes de las células infectadas, en los cuales se verificó el aislamiento por trancripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).[40]

Extracción de ARN viral: Las muestras originales y los sobrenadantes de cultivo fueron procesados para la extracción de ARN viral utilizando el kit comercial QiaAmp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA) de acuerdo al protocolo del fabricante. El ARN obtenido fue almacenado a -80ºC o inmediatamente sometido a RT-PCR.

RT-PCR: Para la detección y tipificación de virus dengue en muestras originales y sobrenadantes del primer pasaje en cultivo celular, fue realizada una RT-PCR en un solo paso de acuerdo al protocolo descrito por Eva Harris et al [40].

Para la secuenciación genomica se sintetizó cDNA viral utilizando la técnica de Random primers, el cual se utilizó como templado para una PCR con 12 pares de oligonucleotidos diseñados en el Instituto de Biología Molecular de Paraná, Curitiba-Brasil, correspondientes a la totalidad del genoma viral. Los productos de la PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 0,8% teñido con bromuro de ethidio 0.4 µg/mL para la visualización de las bandas.

Purificación de Productos de PCR:
Los productos de PCR fueron purificados a partir del gel de agarosa mediante el kit comercial QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN, Valencia, CA, USA) de acuerdo al protocolo del fabricante.

Secuenciación: los fragmentos de cDNA amplificados por PCR y purificados, fueron directamente secuenciados en el secuenciador ABI 3100 utilizando el método BigDye Terminator (Applied Biosystems Inc, USA). Para secuenciar fueron seleccionados los primers requeridos para cubrir el genoma entero por superposiciones. Se utilizó el software Phred/Phrap/Consed system package (Ewing et al, 1998; Swing and Green, 1998; Gordon et al; 1998)41-42 para ensamblar los fragmentos en la secuencia más probable.

La predicción de la estructura secundaria se realizó según Zucker et al. 1999.43

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con una cepa de referencia de DEN-3 proveniente de un caso de FD de Río de Janeiro Brasil año 2003 (BR-03/290, DF).

RESULTADOS

La infección por virus dengue fue confirmada laboratorialmente en todos los pacientes estudiados. Se logró aislar virus DEN-3 (Fig 1) y se detectó proteína NS1 en todas las muestras analizadas. El MAC-ELISA resultó positivo en la muestra del caso de FHD que era la única con más de 5 días de evolución. En la misma muestra se obtuvieron títulos de IgG compatibles con dengue secundario, mientras que las demás presentaron títulos compatibles con dengue primario. **Tabla 1**.

Tabla 1. Resultados de Estudios laboratoriales para la confirmación del diagnóstico de dengue

Casos	Días de evolución	MAC - Elisa	Elisa IgG	Elisa NS1	RT-PCR
Caso de FHD	6	Positivo	>2560	Positivo	DEN-3
Caso de FD atipico	5	Negativo	<100	Positivo	DEN-3
Caso de FD 2007	2	NR*	<100	Positivo	DEN-3
Caso de FD 2006	2	NR*	<100	Positivo	DEN-3

* NR = No realizado

De acuerdo con lo observado en la figura 1, la líneas 1y 11: marcador de peso molecular 100-pb; 2 y 12: control negativo; 3, 4, 5 y 6: sobrenadantes de aislados de bazo de caso de FHD, suero de caso de FD atípico, suero de caso de FD 2007 y suero de caso FD 2006; 7, 8 y 9: muestras de suero originales de caso de FHD, caso de FD atípico y caso de FD 2007; y 10: control positivo DEN-3

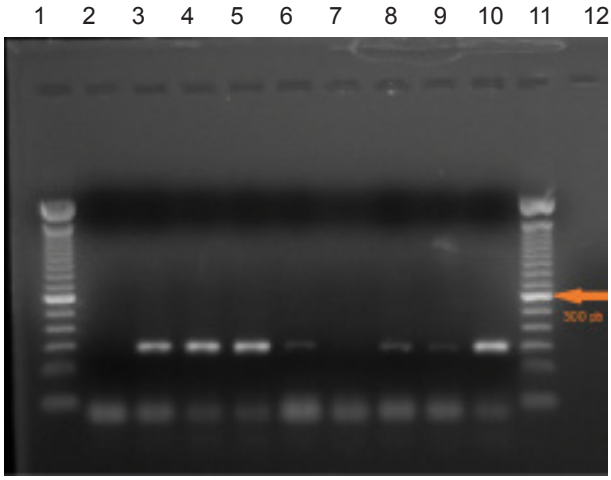


Figura 1. Detección de DEN-3 por RT-PCR

La estrategia utilizada con los 12 pares de oligonucleótidos, permitió la amplificación de productos de PCR correspondientes a la totalidad del genoma viral. Análisis de las secuencias obtenidas permitieron el alineamiento de las muestras estudiadas con la cepa de referencia del IBMP para DEN-3 (BR-03/290, DF). Al igual que la cepa de referencia, los virus analizados correspondieron al genotipo III.

En comparación a la cepa de referencia fueron identificadas 103 mutaciones nucleotídicas, 91 de las cuales son compartidas por todos los virus paraguayos, siendo 15 de ellas no sinónimas.

Al comparar 1470 nucleótidos de la secuencia codificadora de la proteína E entre BR-03/290, y las muestras de FD 2007 y FD atípico, fueron identificadas 20 mutaciones en esa región (98,64% de similaridad con BR-03/290). Siendo que cuatro de ellas eran no sinónimas: 582N→K, 625H→Y, 640E→D e 751T→I. El análisis de mutaciones específicas de cada virus en comparación con BR-03/290 reveló que cada uno presentó solamente una única mutación propia (por lo tanto, difieren entre si en 2/1470 = 0,1%), y con relación a BR-03/290 en 21/1470 = 1,4%.

El virus aislado del cuadro atípico presenta en relación a los demás virus paraguayos una mutación no sinónima en la posición 1731 T→I que corresponde a la proteína E, en tanto que el aislado del caso de FHD presenta una mutación en la posición 7644 L→R correspondiente a la proteína no estructural 5 (NS5) con respecto a los demás virus.

Al comparar las regiones NTR, se observa que las 5'NTR de los virus estudiados son idénticas a BR-03/290, mientras que las 3'NTR de los 4 virus paraguayos presentan dos mutaciones con respecto a la cepa de referencia, pero idénticas entre ellos. Estas mutaciones provocan una variación en la estructura secundaria preliminar prevista para los virus paraguayos comparada con la cepa de referencia (Fig.2 y Fig. 3).

Además de las ya mencionadas, los virus aislados en el 2007 comparados con el aislado en 2006, no presentan otras mutaciones no sinónimas.

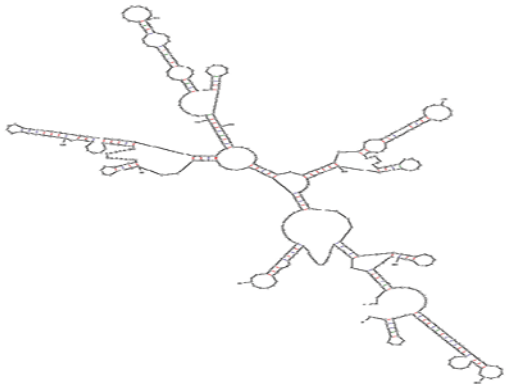


Figura 2. Estructura secundaria prevista para la 3' NTR de los 4 virus DEN-3 paraguayos

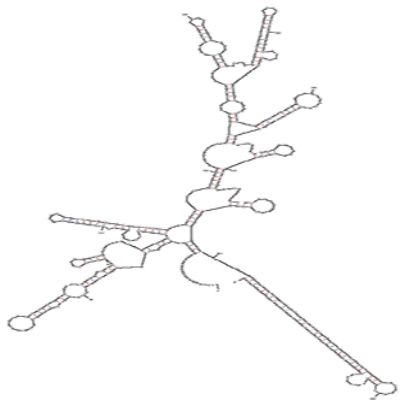


Figura 3. Estructura secundaria prevista para la 3' NTR de la cepa de DEN-3 (BR-03/290, DF)

DISCUSIÓN

La epidemia de dengue del año 2007 en Paraguay, puede considerarse la más severa que ha sufrido el país, en términos no solamente de números de casos reportados, sino también en cuanto a la severidad de las manifestaciones clínicas y el número de muertes confirmadas. Como ya se ha visto en otros países[5-9], durante esta epidemia se observaron además de los casos de FHD/SSD, cuadros de dengue primario con manifestaciones inusuales caracterizadas por la incidencia de miocarditis, hepatitis, neumonitis y afectación del SNC, que en varios casos condujo a la muerte por choque cardiogénico según estudios de anatomía patológica (Bellasai J. datos no publicados). Como estas variaciones en la clínica pueden atribuirse a diversos factores, entre ellos características virales específicas[17-19], presentamos aquí la caracterización genética de los virus dengue aislados durante la epidemia del 2007, en muestras de pacientes con diferentes perfiles clínicos.

El virus aislado en todos los casos estudiados fue el DEN-3 genotipo III, el cual fue también responsable de severas epidemias en otros lugares[7, 25-28]. Sin embargo, este mismo genotipo ya fue detectado en Paraguay en años anteriores sin la ocurrencia de formas severas de la enfermedad[36], este hecho podría deberse a que aparentemente la virulencia aumenta a medida que el agente pasa por el huésped humano[44], lo que podría haber ocurrido en esta epidemia cuyo número de casos reportados fue mucho mayor que en brotes anteriores.

De los dos pacientes con cuadros severos y derivación fatal estudiados, solamente en el caso clasificado como dengue hemorrágico, se encontró respuesta de anticuerpos compatible con dengue secundario, lo que es consistente con la hipótesis de la amplificación mediada por anticuerpos en infecciones secuenciales[12-16]. Sin embargo en el caso con manifestaciones atípicas, esta teoría no explica la severidad del cuadro clínico, ya que se encontraron títulos de anticuerpos compatibles con dengue primario.

Aunque el análisis de la secuencia del genoma de los 4 virus paraguayos estudiados demuestra que son bastante semejantes entre sí, el virus aislado del caso de FD con manifestaciones atípicas presentó una sustitución de aminoácido (T>I) a nivel de la proteína E con respecto a los virus aislados de casos con otros perfiles clínicos (FD y FHD). La glicoproteína E representa el antígeno viral dominante en la estimulación de anticuerpos neutralizantes y respuesta inmune protectora en el huésped, además es responsable de la adsorción del virus a la célula, de la fusión de membranas y del ensamblaje viral[32, 45, 46].Mutaciones en esta proteína demostraron tener dramáticos efectos en la virulencia de otros flavivirus in vitro o in vivo[19]. Recientemente han sido identificados determinantes específicos de virulencia en la proteína E mediante la aplicación de técnicas experimentales como la selección y caracterización de variantes de escape de neutralización en presencia de anticuerpos monoclonales anti proteína E[46].

Por otro lado el virus aislado del caso de FHD presenta una mutación no sinónima (L>R) en la proteína NS5 con respecto a los demás virus. La proteína de mayor tamaño y la más altamente conservada, es la NS5, y se cree que funciona como polimerasa viral en los flavivirus[47]. El mapeamiento de la mutación en la proteína NS5 utilizando el modelo tridimensional indica que esta alteración mapea en el dominio N-terminal de la proteína y podría estar relacionada a actividad de S-adenosyl methionine transferase, implicada en el proceso de traducción[48]. Estudios complementarios utilizando la tecnología de replicones y/o genomas infeccciosos permitirán determinar la real contribución de cada una de las mutaciones en el fenotipo viral.

Los aislados de los 4 pacientes paraguayos, presentaron dos mutaciones en la región 3'NTR con respecto a la cepa de referencia, pero idénticas entre ellos. Aunque se ha visto que esta región contiene secuencias esenciales para la replicación viral, y ha sido correlacionada con la virulencia en otros flavivirus[19], en este caso las mutaciones no pueden ser correlacionadas con la patogenicidad, ya que fueron comunes a los diferentes cuadros clínicos. De cualquier modo, la estructura secundaria prevista de la 3'NTR de los virus paraguayos es considerablemente diferente a la del virus BR-03/290, DF, lo que demostraría la variación que van sufriendo los virus DEN-3 que circulan en la región.

Estudios estructurales y funcionales posteriores permitirán dilucidar las implicancias de las mutaciones encontradas en los virus aquí estudiados, y confirmar si las estructuras halladas se mantienen

consistentemente en otros ciclos de transmisión viral.

Actualmente estamos caracterizando genéticamente otros aislados virales provenientes de las diferentes formas clínicas observadas en la epidemia, con el objeto de mapear eventuales marcadores moleculares de virulencia y mecanismos envueltos en la patogénesis del dengue. De cualquier modo comunicamos aquí los primeros resultados obtenidos en la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization, 1997. Dengue Haemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. Second edition. Geneva: World Health Organization.

2. Innis BL. Dengue and dengue hemorrhagic fever. In: Porterfield JS, ed. Kass Handbook of Infectious Diseases: Exotic Virus Infections. 1st ed.London: Chapman and Hall Medical, 1995:103–46.

3. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Clin Microbiol Rev 1998; 11(3):480-96.

4. Gibbons RV, Vaughn DW. Dengue: an escalating problem. BMJ 2002; 324: 1563–1566.

5. Kamath SR, Ranjit S. Clinical features, complications and atypical manifestations of children with severe forms of dengue haemorrhagic fever in South India. Indian J Pediatr [serial online] 2006 [cited 2007 Feb 28];73:889-895. Available from: http://www.ijppediatricsindia.org/article.asp

6. Ling LM, Wilder-Smith A, Leo YS. Fulminant Hepatitis in dengue haemorrhagic fever. J Clin Virol 2007; 38: 265-268.

7. Nogueira RM, Schatzmayr HG, Filippis AM, Santos FB, Cunha RV,Coelho JO, Souza LJ, Guimaraes FR, Araujo ES, Simone TS, Baran M, Teixeira G, Miagostovich MP.Dengue virus type 3, Brazil, 2002. Emerg Infect Dis 2005; 11: 1376-1381.sistentemente en otros ciclos de transmisión viral.

8. Nogueira RMR, Filippis AMB, Coelho JMO, Sequeira PC, Schatzmayr HG, Paiva FG, et al. Dengue virus in central nervous system in Brazil. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2002; 33:68-71.

9. Leao RN, Oikawa T, Rosa ES, Yamaki JT, Rodrigues SG, Vasconcelos HB, et al. Isolation of dengue 2 virus from a patient with central nervous system involvement (transverse myelitis). Rev Soc Bras Med Trop 2002; 35: 401-4.

10. Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988;239:476–81.

11. Rosen L. “The emperor’s new clothes” revisited, or reflections on the patogenesis of dengue haemorrhagic fever. Am J Trop Med Hyg 1977; 26:337-343.

12. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. Am J Trop Med Hyg 1988;38:172–80.

13. Halstead SB, Nimmannitya S, Yamarat C, Russell PK. Hemorrhagic fever in Thailand; recent knowledge regarding etiology. Jpn J Med Sci Biol 1967; 20:96–103.

14. Halstead SB, Nimmannitya S, Cohen SN. Observations related to patogénesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease severity to antibody response and virus recovered. Yale J Biol Med 1970; 42:311–28.

15. Russell PK, Yuill TM, Nisalak A, Udomsakdi S, Gould D, Winter PE. An insular outbreak of dengue hemorrhagic fever. II. Virologic and serologic studies. Am J Trop Med Hyg 1968;17:600–8.

16. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S, et al. , Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. I: the 1980 outbreak. Am J Epidemiol 1984;120:653–69.

17. Rosen L. The pathogenesis of dengue haemorrhagic fever: a critical appraisal of current hypotheses. S Afr Med J 1986; (Suppl):40–2.

18. Rico-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, et al. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. Virology 1997; 230:244–51.

19. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, et al. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. J Virol 1999;73:4738–47.

20. Chiewsilp P, Scott RM, Bhamarapravati N. Histocompatibility antigens and dengue hemorrhagic fever. Am J Trop Med Hyg 1981;30:1100–5.

21. Bravo Gonzalez JR, Guzman Tirado MG, Kouri Flores G. Encuesta seroepidemiologica retrospectiva a virus dengue en el municipio Cerro. Metodologia. Rev Cubana Med Trop 1985;37:259–68.

22. Guzman MG, Kouri G, Morier L, Soler M, Fernandez A. A study of fatal hemorrhagic dengue cases in Cuba, 1981. Bull Pan Am Health Organ 1984;18:213–20.

23. Anto S, Sebodo T, Sutaryo, Suminta, Ismangoen. Nutritional status of dengue haemorrhagic fever in children. Paediatrics Indonesia 1983;23:15–24.

24. Thisyakorn U, Nimmannitya S. Nutritional status of children with dengue hemorrhagic fever. Clin Infect Dis 1993;16:295–7.

25. Messer WB, Gubler DJ, Harris E, Sivananthan K, De Silva AM. Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype III virus. Emerg Infect Dis 2003; 9: 800-808.

26. Lanciotti, R. S., J. G. Lewis, D. J. Gubler, and D. W. Trent. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. J Gen Virol 1994; 75:65–75.

27. Miagostovich M, Santos F, Fumian T, Guimaraes F, Costa E, Tavares F, Coelho J, Nogueira RM. Complete genetic caracterization of a brazilian dengue virus type 3 strain isolated from a fatal outcome. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; Vol 101 Nº 3.

28. Figueroa R, Ramos C. Dengue virus (serotype 3) circulation in endemic countries and its reappearance in América. Arch Med Res 2000; 31: 429-430

29. Chambers TJ, Chang SH, Galler R and Rice CM. Flavivirus geneme organization, expression, and replication. Annu Rev Microbiol 1990; 44: 649-688.

30. McMin PC. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses. J Gen Virol 1997; 78:2711-2722.

31. Holden KL, Harris E. Enhancement of dengue virus translation: role of the 3 untraslated region and the terminal 3 stem-loop domain. Virology 2004; 329:119-133.

32. Halstead SB, Heinz FX, Barret ADT, Roehrig JT. Dengue virus: molecular basis of cell entry and pathogenesis. Vaccine 2005; 23: 849-856.

33. Boletín Epidemiológico República del Paraguay. Vigilancia epidemiológica del Dengue en el Paraguay. Ed. Páez M. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Año 8 Nº 24 2002: 1-4

34. Vazquez C, Bobadilla ML, Villalba S y Morán M. Aislamiento e identificación del virus Dengue circulante en el brote de abril a junio de 2001. III Congreso Paraguayo de Infectología 2001; Asunción-Paraguay.

35. Bobadilla ML, Vazquez C, Villalba S. Circulación simultánea de múltiples serotipos de dengue en Paraguay. Años 2002-2003. IV Congreso Paraguayo de Infectología 2003; Asunción-Paraguay.

36. Aquino VH, Anatriello E, Gonçalves P, Da Silva E, Vasconcellos P, Vieira D, Batista W, Bobadilla ML, Vázquez C Moran M, Figueiredo LT. Molecular epidemiology of dengue type 3 virus in Brazil and Paraguay.

37. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, et al. An ezyme-linked inmunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and japanese encephalitis co-circulate. Am J Trop Med Hyg 1989; 40: 418-27.

38. Kuno G, Gómez I, Gubler DJ. An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infections. J Virol Methods 1991; 33: 101-13

39. 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: 158-65.

40. Harris E, Roberts TG, Smith L, Selle J, Kramer LD, Valle S, Sandoval E, Balmaceda A. Typing of dengue viruses in clinical specimens and mosquitoes by single-tube multiplex reverse transcriptase PCR. J Clin Microbiol 1998;36(9): 2634-2639.

41. Ewing B, Hillier L, Wendl MC, Green P. Base-calling of automated secuencer traces using phred. II Error probabilities. Genome Research. 1998; 8(3): 175-185

42. Ewing B, Green P. Base-calling of automated secuencer traces using phred. II Error probabilities. Genome Research. 1998; 8(3):186-194.

43. Zucker M, Matthews DH, Turner DH. Algorithms and thermodynamics for RNA secondary structure prediction: A practical guide. In RNA Biochemistry and Biotechnology, NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers, 1999, pp. 11-43.

44. Kouri G, Guzman MG, Bravo JR, Triana C. Dengue hemorrhagic fever/dengue schock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. Bull WHO 87 1989; 4:375-380.

45. Chen Y, Maguire T and Marks RM. Demonstration of binding of dengue virus envelope protein to target cells. J Virol 1996;70:8765-8772.

46. Roehrig JT, Bolin RA, Kelly RG. Monoclonal antibody mapping of the envelope glycoprotein of the dengue 2 virus, Jamaica. Virology 1998;246:317-328.

47. McMin PC. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses. J Gen Virol 1997;78:2711-2722.

48. Rice CM, Lenches EM, Eddy SR, Shin J, Sheets RL, Strauss JH. Nucleotide Secuence of yellow fever virus: implications for flavivirus gene expression and evolution. Science 1985; 229:726-733.

49. Yap TL, Xu T, Chen YL, Malet H, Egloff MP, Canard B, Vasudevan SG, Lescar J. Crystal structure of the dengue virus RNA-dependent RNA polymerase catalytic domain at 1.85-angstrom resolution. J Virol. 2007;81(9):4753-65.

50. Duarte Dos Santos CN, Frenkiel MP, Courageot MP, Rocha CF, Vazeille-Falcoz CM, Wien WM, Rey FA, Deubel V, Després P. Determinants in the envelope E Protein and Viral RNA Helicase NS3 That Influence the Induction of Apoptosis in Responses to Infection with Dengue Type 1 Virus. Virology 2000; 274:292-308.

REVISTA
PARAGUAYA DE
EPIDEMIOLOGÍA

Guia de publicación para autores

NORMAS DE PUBLICACION DE LA REVISTA PARAGUAYA DE EPIDEMIOLOGÍA

La Revista Paraguaya de Epidemiologia es la publicación oficial de la Dirección General de Vigilancia de la Salud (DGVS), del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. La revista publica contribuciones originales de investigadores de todo el mundo en el área de la epidemiologia. Se publica semestralmente un volumen al año.

REQUISITOS PARA AUTORES BASADOS EN LAS NORMAS DE VANCOUVER

Aceptación de los trabajos

Para la aceptación o rechazo de los artículos es necesario un proceso de evaluación que incluye: Una primera revisión, que queda en manos de los editores, en la que se determina la importancia, relevancia y profundidad del trabajo, si el manuscrito corresponde a la línea editorial, se apega a las normas de la Revista Paraguaya de Epidemiología y cumple con los criterios generales de publicación.

• Una segunda revisión, que se encomienda cuando menos a dos revisores (peer review); en caso de que los dictámenes sean contradictorios, se somete a consideración del Comité Editorial o bien, se solicita una tercera evaluación.

El dictamen puede ser de aceptación, rechazo o condicionamiento a las modificaciones sugeridas por los revisores.

Toda decisión se comunica al autor por escrito, en un plazo de dos a tres meses a partir de la fecha en que se recibe el original. Si el trabajo resulta condicionado, la nueva versión, deberá enviarse en el plazo que se le indique, pero en ningún caso podrá exceder de 30 días.

I. NORMAS GENERALES

a) REQUISITOS TÉCNICOS

1. Se enviará el material en hoja tamaño A4 (212x297 mm), con márgenes de por lo menos 25 mm, formato de texto de Microsoft WORD, letra verdana, tamaño 10.

2. El artículo debe ser enviado como archivo adjunto al Comité Editorial de la Revista Paraguaya de Epidemiologia, al correo rev.parag.epidemiol@gmail.com.

Debe estar corregido, sin faltas ortográficas o de estilo. Una hoja con la firma de todos los autores, en donde expresen que aceptan la publicación de la revista.

b) PÁGINA DEL TÍTULO

- Título del artículo en español, claro, conciso y especifico, debe contener el mínimo número de palabras posibles que describan adecuadamente el artículo y permitan clasificarlo. No incluya abreviaturas.
- Título en inglés, debe ser fiel traducción del castellano.
- Nombre y apellidos de los autores y su afiliación institucional
- Nombre de la sección y de la institución
- Nombre del autor correspondiente (corresponding author) y forma de contactarlo

c) AUTORÍA

Todas las personas que figuren como autores deberán estar cualificadas para ello.
Cada autor deberá haber tomado parte en el trabajo de manera suficiente como para responsabilizarse públicamente del contenido.
El reconocimiento de la autoría deberá basarse únicamente en contribuciones sustanciales en cuanto a los siguientes aspectos:

a) concepción y diseño, o análisis e interpretación de los datos;
b) redacción o elaboración del borrador del artículo, o revisión crítica del contenido intelectual relevante;
c) visto bueno definitivo de la versión a publicar.

- DEBEN CUMPLIRSE TODAS LAS CONDICIONES ANTERIORES.

El participar sólo en la adquisición de fondos o en la recogida de datos no justifica la autoría. La supervisión general del grupo investigador no es suficiente para figurar como autor. Cualquier parte de un artículo que sea esencial para las conclusiones fundamentales del mismo

será resposabilidad de por lo menos uno de los autores.

Frecuentemente las investigaciones multicéntricas se atribuyen a un autor colectivo. Todos los miembros del equipo que consten como autores, ya sea en el lugar de la autoría debajo del título o en una nota a pie de página, deberán cumplir en su totalidad los criterios arriba indicados para figurar como autores. Los miembros del equipo que no satisfagan estos criterios podrán figurar, con su permiso, en la sección de agradecimientos o en un anexo (consultar el apartado "Agradecimientos").

El orden en el que aparecen los autores deberá ser una decisión conjunta de los coautores. Debido a que este orden se asigna de diferentes maneras, no se puede inferir su significado con exactitud a menos que sea indicado por su parte. Puede que los autores deseen explicar el orden en el que aparecen en una nota a pie de página. Cuando estén decidiendo sobre el orden, los autores deberán ser conscientes de que muchas revistas limitan el número de autores que figuran en el índice de materias y de que la National Library of Medicine recoge en MEDLINE sólo los 24 primeros autores más el último cuando hay más de 25.

d) ASPECTOS ÉTICOS

Cuando se trata de trabajos que incluyen experimentos en seres humanos, incluir si los procedimientos seguidos cumplen los estándares éticos del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) y de la declaración de Helsinki de 1975, revisada en el 2000.

No utilice nombre de los pacientes ni sus iniciales o el número que les corresponde en el hospital, especialmente el material ilustrativo. No pueden publicarse descripciones, fotografía u otros detalles que contribuyan a identificar al paciente a menos que la información sea indispensable para la publicación, en cuyo caso el paciente, padre o responsable legal debe expresar su consentimiento por escrito.

En el caso de experimentos con animales, indicar que se ha cumplido con los principios básicos rectores de carácter internacional aplicables a las investigaciones biomédicas con animales, elaborados por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) y del Consejo Internacional de Ciencia y Animales de Laboratorio (ICLAS).

e) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Las referencias se numerarán de manera correlativa según el orden en el que aparecen por primera vez en el texto. Se identificarán en el texto, tablas y leyendas mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias que se citan sólo en las tablas o en las leyendas de las figuras se numerarán de acuerdo con el orden establecido por la primera identificación dentro del texto de cada tabla o figura.
Los ejemplos siguientes están basados en la forma usada por la National Library of Medicine (NLM) de los Estados Unidos en el Index Medicus. Se deberán escribir en abreviatura los títulos de las revistas según el estilo empleado en el Index Medicus, para lo cual se puede consultar la List of Journals Indexed que se publica anualmente como publicación específica y en el número correspondiente al mes de enero de Index Medicus. El listado también se puede obtener a través de Internet: http://www.nlm.nih.gov.

Es conveniente evitar citar como referencia los resúmenes presentados en congresos u otras reuniones. Las alusiones a trabajos admitidos para su publicación, pero aún no publicados deberán aparecer como "en prensa" o "de próxima aparición"; los autores deberán obtener permiso escrito para citar estos trabajos, así como tener constancia de que están admitidos para su publicación. La información sobre trabajos presentados pero que no han sido aceptados deberá aparecer en el texto como "observaciones no publicadas" y siempre con consentimiento escrito por parte de los responsables de la fuente de información.

En la medida de lo posible, se evitará utilizar expresiones como "comunicación personal", a menos que lo citado suministre información esencial que no se pueda obtener de fuentes publicadas, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha en que se efectuó la comunicación deberán constar entre paréntesis en el texto. Si se trata de artículos científicos, los autores necesitarán obtener permiso escrito de donde proceda la información particular, y confirmación de la exactitud de la misma.

El autor deberá comprobar las referencias cotejándolas con los documentos originales.
El estilo de los "Requisitos de Uniformidad" (estilo Vancouver) se basa en su mayor parte en un estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para sus bases de datos. En los puntos donde el estilo Vancouver difiere del estilo utilizado por la NLM, se ha hecho referencia a ello, explicando en qué consiste la diferencia.

EJEMPLOS DE REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A) Artículos de revistas científicas

(1) Artículo estándar

Incluir los seis primeros autores y a continuación escribir et al. (Nota: la NLM incluye un máximo de 25 autores; si hay más de 25 la NLM anota los 24 primeros, luego el

último, y finalmente et al.).
Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart Transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. Ann Intern Med 1996 Jun 1; 124(11):980-3.
Como opción, si una revista utiliza paginación correlativa a lo largo del volumen (como suelen hacer la mayoría de las revistas médicas) el mes y el número del ejemplar pueden omitirse. (Nota: Para ser coherentes, esta opción se utiliza a lo largo de los ejemplos en los "Requisitos de Uniformidad". La NLM no utiliza esta opción).
Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart Transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. Ann Intern Med 1996;124:980-3.
Más de seis autores:
Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childood leukaemia en Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. Br J Cancer 1996; 73:1006-12.

(2) Autor corporativo
The Cardiac Society of Australia and New Zeeland. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. Med J Aust 1996; 116:41-2.

(3) No se indica el nombre del autor
Cancer in South Africa [editorial]. S Afr Med J 1994; 84:15.

(4) Artículo en otro idioma distinto del inglés
(Nota: la NLM traduce el título al inglés, lo mete entre corchetes y añade una indicación del idioma original en abreviatura.
Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. Tidsskr Nor Laegeforen 1996; 116:41-2.

(5) Suplemento de un volumen
Shen HM, Zhang QF. Risk assesment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. Environ Health Perspect 1994; 102 Supl 1:275-82.

(6) Suplemento de un número
Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women´s psichological reactions to breast cancer. Semin Oncol 1996; 23(1 Supl 2):89-97.

(7) Parte de un volumen
Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. Ann Clin Biochem 1995; 32(Pt 3):303-6.

(8) Parte de un número
Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in aging patients. N Z Med J 1994; 107(986 Pt 1):377-8.

(9) Número sin volumen
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in reumathoid arthritis. Clin Orthop 1995;(320):110-4.

(10) Sin número ni volumen
Browell DA,Lennard TW. Inmunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. Curr Opin Gen Surg 1993:325-33.

(11) Paginación en números romanos
Fisher GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. Hematol Oncol Clin North Am 1995 Abr;9(2):XI-XII.

(12) Indicación del tipo de artículo según corresponda
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson´s disease [carta]. Lancet 1996; 347:1337.
Clement J, De Bock R. Hematological complications of antavirus nephropathy (HVN) [resumen]. Kidney Int 1992; 42:1285.

(13) Artículo que contiene una retractación
Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in the mice. [retractación de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. En: Nat Genet 1994; 6:426-31]. Nat Genet 1995; 11:104.

(14) Artículo retirado por retractación
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocius IRBP gene expression during mouse development [retractado en Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:3127]. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994; 35:1083-8.

(15) Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas
Hamlin JA, Kahn AM. Herniography in sinptomatic patients following inguinal hernia repair [fe de erratas en West J Med 1995;162:278]. West J Med 1995; 162:28-31.

B) Libros y Otras Monografías

(Nota: el estilo Vancouver anterior añadía, de manera errónea, una coma en lugar de un punto y coma entre el editor y la fecha).

(16) Individuos como autores
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 20 ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

(17) Editor(es), compilador(es) como autores
Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. Nueva York: Churchill Livingstone; 1996.

(18) Organización como autor y editor
Institute of Medicine (US). Looking at the future of the

Medicaid programme. Washington (DC): The Institute; 1992.

(19) Capítulo de libro

(Nota: el anterior estilo Vancouver tenía un punto y coma en lugar de una "p" para la paginación).

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertensión and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editores. Hypertensión: pathophysiology, diagnosis and management. 20 ed. Nueva York: Raven Press;1995. p. 465-78.

(20) Actas de conferencias

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophisiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophisiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japón. Amsterdam: Elsevier; 1996.

(21) Ponencia presentada a una conferencia

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. En: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienholf O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Ginebra, Suiza. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

(22) Informe científico o técnico

Publicado por la agencia patrocinadora:

Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Fynal report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOE169200860.

Publicado por la agencia responsable de su desarrollo:

Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health Services Research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contrato N1.: AHCPR282942008. Patrocinado por la Agency for Health Care Policy and Research.

(23) Tesis doctoral (o similar)

Kaplan SJ. Post-hospital home health-care: the elderly´s acces and utilization [tesis doctoral]. San Luis (MO): Washington Univ.; 1995.

(24) Patente

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignee. Méthods for procedures related to the electrophisiology of the heart. US patente 5,529,067. 1995 Jun 25.

Otros trabajos publicados

(25) Artículo de periódico

Lee G. Hospitalitations tied to ozone pollution: study estimates 50.000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sec. A:3 (col. 5).

(26) Material audiovisual

VIH +/SIDA: the facts and the future [videocassette]. San Luis (MO): Mosby-Anuario; 1995.

(27) Documentos legales

Ley aprobada:

Preventive Healths Amendments of 1993 Pub. L. No.103-183, 107 Stat 2226 (Dec. 14,
1993).

Proyecto de ley:

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1st Sess. (1995).

Código de Regulaciones Federales:

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441257 (1995). Comparecencia:

Increased Drug Abuse: the impact of the Nation´s Emergency Rooms: Hearings before the Subcomm. On Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm.on .Goverment Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26, 1993).

(28) Mapa

North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [mapa demográfico]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health and Natural Resources Div. of Epidemiology; 1991.

(29) Libro de la Biblia

La Sagrada Biblia. Versión del Rey Jaime. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.

(30) Diccionarios y obras de consulta similares

Stedman´s medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p. 119-20.

(31) Obras clásicas

The Winter´s Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete Works of William Shakespeare. Londres: Rex; 1973.

Material no publicado

(32) En prensa

(Nota: la NLM prefiere poner "de próxima aparición" puesto que no todos los informes serán impresos). Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. En prensa 1997.

Material informático

(33) Artículo de revista en formato electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [citado 5 Jun 1996]; 1(1):[24 pantallas]. Disponible en: URL: http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm.

Tablas

Las tablas deberán ir en el texto en formato modificable(). No enviar las tablas en fotografía. Se numerarán correlativamente según el orden en el que aparecen por primera vez en el texto y se asignará un título breve a cada una. Cada columna llevará un título escueto o abreviado. Las explicaciones irán en notas a pie de página, no en los títulos. Todas las abreviaturas no estándar que se usen en las tablas serán explicadas en notas a pie de página. Para las notas a pie de página se utilizarán los
símbolos siguientes, en el orden que se muestra: *, H, I, ,, **, &, **, HH, II, y así sucesivamente.
Se identificarán las medidas estadísticas de dispersión tales como la desviación estándar y el error estándar de la media. No se trazarán líneas internas horizontales o verticales en las tablas. Cada tabla deberá ser mencionada en el texto.
Si se utiliza información de cualquier fuente, publicada o no, es preciso obtener permiso de la misma y expresarle el agradecimiento.
Al subir un trabajo a través de la página web se tendrá en cuenta: - Enviar el documento en Word (tablas y figuras en formato modificable).

Unidades de medida

Las medidas de longitud, altura, peso, y volumen serán expresadas en unidades métricas (metros, kilogramos o litros, o sus múltiplos decimales).
Las temperaturas se indicarán en grados Celsius. La presión sanguínea se indicará en milímetros de mercurio. Todos los valores hemáticos o bioquímicos se presentarán en unidades del sistema métrico decimal de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).
Los directores podrán pedir a los autores que añadan unidades alternativas o no pertenecientes al SI antes de la publicación.

Abreviaturas y símbolos

Se utilizarán sólo abreviaturas estándar, evitando su uso en el título y en el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura irá precedida del término completo al que corresponde, salvo si se trata de unidades de medida común.

e) AGRADECIMIENTOS

Incluir esta sección en el apéndice del texto. Especificar:

- Contribuciones que necesitan agradecimiento pero que no justifican autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento;
- la ayuda técnica recibida;
- el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo;
- las relaciones financieras que puedan suscitar un conflicto de intereses.

II. NORMAS ESPECÍFICAS

a) ARTÍCULOS ORIGINALES

El manuscrito debe ser dispuesto en el siguiente orden: título, nombres de los autores, departamento o laboratorio donde fue realizado el trabajo, nombre y dirección de la institución, resumen, palabras claves, introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, reconocimientos (si existen), y referencias. Los patrocinadores deben mencionarse como pie de nota en la primera página.

1) RESUMEN Y PALABRAS CLAVE (español e inglés)

La segunda página deberá constar de un resumen (de no más de 250 palabras y debe ser no estructurado). En el resumen se harán constar los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos del estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y de análisis), hallazgos más importantes (consignando información específica o datos y su significación estadística siempre que sea posible) y las conclusiones principales. Deberán destacarse las observaciones y aspectos más novedosos y relevantes del estudio.

Tras el resumen los autores deberán especificar e identificar como tal, de 3 a 10 palabras clave o frases cortas que ayudarán a la hora de indizar el artículo en las bases de datos. Estas palabras claves se podrán publicar con el resumen. Se deberán utilizar los términos del Medical Subject Headings (MeSH) del Index Medicus; si no hubiera términos apropiados disponibles de la lista del MeSH para los recientemente incorporados a la literatura, se podrán utilizar términos o expresiones de uso conocido.

2) INTRODUCCIÓN

Exprese el propósito del artículo. Resuma el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. No incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

3) MATERIALES Y MÉTODOS

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos. Identifique los métodos, aparatos, equipos y procedimientos, con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos del de índole estadísticas. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración. No use el nombre, las iniciales ni el número de historia clínica de los pacientes, especialmente en el material ilustrativo.

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que el lector, versado en el tema y que tenga acceso

Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición (por ejemplo, intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas de comprobación de hipótesis estadísticas, tales como el uso de los valores 'p' que no transmiten información cuantitativa importante. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización de los sujetos. Especificar el software utilizado.

4) RESULTADOS

Presente los resultados siguiendo una secuencia lógica mediante texto, tablas y figuras. No repita en el texto los datos de los cuadros o las ilustraciones: destaque o resuma solo las. Las tablas se ajustarán al formato de la publicación y la editorial podrá modificarlas si éstas presentan dificultades técnicas.
El número de gráficos a presentar (generalmente no más de 5)

5) DISCUSIÓN

Destacar los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información, ya presentados en las secciones de introducción y resultados.
Explique en esta sección el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas las consecuencias para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

6) REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

b) ARTÍCULO DE REVISIÓN

Documento resultado de una investigación donde se analizan, sistematizan e integran los resultados de investigaciones publicadas o no publicadas, sobre un campo en ciencia o tecnología, con el fin de dar cuenta de los avances y las tendencias de desarrollo. Se caracteriza por presentar una cuidada revisión bibliográfica de por lo menos 50 referencias.

c) TEMAS DE ACTUALIDAD

Serán solicitadas por el comité editorial al igual que los artículos de revisión deberán aportar un real interés científico, pero sin la profundidad de análisis crítico que requiere un artículo de revisión. Requiere de un resumen no estructurado, una introducción, texto y conclusiones. Puede incluir no más de cuatro gráficas o figuras. Deberá constar de: 1. Título en español y en inglés (no más de 250 palabras); 2. Resumen y palabras claves, en español y en inglés. 3. Desarrollo del tema, 4. Conclusión, 5. 2000 palabras sin incluir referencias. Deberán constar los siguientes puntos 1. Título en español y en inglés, 2. Resumen y palabras claves, en español y en inglés 3. Una breve introducción, 4. Presentación de los casos, 5. Discusión de caso en base a la literatura y si es posible incluir el diagnóstico diferencial 6. Referencias (no más de 25) 7. Tablas y figuras, en total tres.

e) CARTAS AL EDITOR

Son comunicaciones cortas con varios objetivos. 1) Estimular la discusión de los artículos publicados en la Rev. Par.Epidemiol. Se invita a la comunidad científica a escribir críticas constructivas no mayores a dos páginas y en un tiempo no mayor a dos meses después de publicado el artículo en cuestión. 2) Comunicación de observaciones científicas breves en las que el autor considere que no se requiere el espacio de un artículo original. En este caso se permitirá un máximo de 3 páginas, una tabla o figura y cinco referencias bibliográficas). La cantidad de autores no deberá exceder de tres, teniendo un autor responsable del cual se enviará la correspondencia.

f) COMUNICACIONES CORTAS (SHORT COMMUNICATIONS)

Comunicaciones que involucran pocos resultados en general preliminares que no alcanzan para una publicación completa (full papers).

Estas comunicaciones serán hechas siguiendo los ítems de una publicación completa, pero en forma sucinta, de manera que todo el trabajo alcance 3 páginas como máximo.
Los demás ítems se harán igual que para una comunicación completa (agradecimiento, bibliografías, figuras).

g) EDITORIAL

Documento escrito por el editor, un miembro del comité editorial o un investigador invitado sobre orientaciones en el dominio temático de la revista.

h) OTRAS SECCIONES:

Resúmenes de congresos, jornadas o reuniones científicas, normas y especificaciones técnicas.