

PROTOCOLO DE VIGILANCIA DE DENGUE

DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Introducción

El dengue es una de las principales enfermedades de transmisión vectorial en los humanos y la enfermedad viral transmitida por mosquitos que más rápidamente se ha extendido por el mundo: en las últimas décadas se ha multiplicado por 30 y ha pasado de ser endémica en 9 países en 1970 a más de 100 en la actualidad.

Se caracteriza por comienzo repentino de fiebre, típicamente bifásica, que cursa con signos de dolor (cefalea intensa, dolor retro-orbitario, mialgias, artralgias), astenia, anorexia, náuseas, vómitos y erupción cutánea en el 50% de los casos. Es común que se presente trombocitopenia, leucopenia y alteración de las pruebas hepáticas. Entre un 40 y un 80% de las infecciones cursan de forma asintomática. Cuando se producen síntomas, el curso clínico es leve y auto limitado en la mayoría de los casos, pero una pequeña proporción de ellos (<5%) pueden progresar hacia dengue grave.

En el dengue grave (tradicionalmente llamado dengue hemorrágico/síndrome de shock por dengue) se producen síntomas derivados del aumento de permeabilidad vascular y extravasación de líquido hacia el tercer espacio: dificultad respiratoria debida a edema pulmonar, derrame pleural y pericárdico, dolor en hipocondrio por ascitis, shock hipovolémico y/o hemorragias graves, o daño orgánico importante. Las causas de presentación clínica de dengue grave son aún desconocidas. La hipótesis más aceptada atribuye este cuadro a la respuesta inmunológica, ya que es característico que ocurra en las infecciones sucesivas por serotipos diferentes en el mismo individuo, en que se desencadena una respuesta heteróloga de anticuerpos. El dengue grave también puede ocurrir durante la infección primaria en lactantes cuyas madres son inmunes al dengue. La recuperación suele producirse en los diez días posteriores al comienzo de síntomas aunque pueden persistir la fatiga y la depresión. Se debe realizar un seguimiento estricto del paciente para detectar los signos de alarma de dengue grave. El periodo crítico se produce en las 48 horas posteriores a la caída de la fiebre. Entre los casos graves, la letalidad puede llegar hasta el 30-40%, si no son diagnosticados y tratados de forma adecuada durante el periodo crítico.

En el diagnóstico diferencial deben considerarse otras enfermedades víricas transmitidas por artrópodos (chikungunya, Zika, fiebre amarilla, paludismo, fiebre del Nilo Occidental), además de gripe y otras enfermedades exantemáticas (sarampión, rubéola, fiebre tifoidea, tifus, leptospirosis) y en general las enfermedades febriles sin foco claro.

El dengue se comporta de forma endemo-epidémica en zonas urbanas y rurales de América, sudeste asiático, este del Mediterráneo, Pacífico occidental y África.

En Europa, la última gran epidemia de dengue se notificó en Grecia y en otros países mediterráneos, incluida España, entre 1927 y 1928 y el vector implicado fue *Aedes aegypti*. Este vector posteriormente se eliminó del territorio Europeo. Desde entonces y hasta el 2010, todos los casos de dengue ocurridos en Europa habían sido casos importados en viajeros procedentes de zonas endémicas. Sin embargo, el riesgo de transmisión local está aumentando, ya que recientemente se han detectado vectores competentes (*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*) en territorio europeo. En 2012 se notificó en la isla de Madeira (Portugal) un brote de más de 2000 casos de dengue autóctono asociado a *Ae. aegypti* y en la Isla Reunión (Francia) hay un brote activo atribuido a *Ae. albopictus* que entre enero de 2018 y marzo de 2019 ha causado más de 9000 casos. En otros países del continente europeo se han sucedido desde 2010 casos esporádicos y pequeños brotes autóctonos de dengue de entre 1 y 7 casos en zonas con presencia de *Ae. albopictus*: en Francia (2010, 2013, 2014, 2015 y 2018) y Croacia (2010).

En España los primeros casos de dengue autóctono se identificaron en 2018: una primera agrupación de 3 casos que habían compartido estancia en la Región de Murcia y en Andalucía, y posteriormente otros 2 casos residentes en Murcia que se consideraron como parte del mismo brote. Además ese mismo año se identificó 1 caso aislado residente en Cataluña, no relacionado con el brote anterior. Existe riesgo de que se produzcan nuevos casos por transmisión local en zonas con presencia de *Ae. albopictus*, especialmente durante los períodos de alta actividad vectorial.

Agente

Virus del dengue, familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*. Existen cuatro serotipos (dengue 1 a 4). Los serotipos que ocasionan dengue hemorrágico más frecuentemente son el 2, 3, 4 y en último lugar el tipo 1. En las zonas endémicas, no es infrecuente la coexistencia de más de un serotipo en un brote.

Reservorio

El humano es el principal reservorio. El virus se mantiene en zonas urbanas de clima tropical y subtropical en un ciclo entre el ser humano y el mosquito del género *Aedes*. Existe otro ciclo selvático en zonas de Asia y África (y probablemente en las selvas de América) en el que el mono actúa como reservorio, aunque no hay evidencia de que estos virus puedan desencadenar grandes epidemias.

Modo de transmisión

El principal mecanismo de transmisión es a través de la picadura de mosquitos hembra del género *Aedes*. Son preferentemente antropofílicos y tienen un hábito de alimentación diurno, con picos de actividad en las primeras horas de la mañana y últimas horas de la tarde. El vector más competente es *Ae. aegypti*, que en Europa se ha reestablecido en Madeira y está presente en el entorno del Mar Negro. En España existen regiones medioambientalmente favorables a su reintroducción, aunque de momento solo se ha detectado de forma puntual en Fuerteventura (Canarias), donde tras 18 meses de vigilancia entomológica continua se considera ya erradicado. *Ae. albopictus* es también competente para transmitir la infección aunque de forma menos eficiente. Es una especie invasora con gran capacidad de adaptación que se ha extendido por todo el mundo incluida Europa. En España se encuentra en expansión y se ha establecido en Cataluña, C. Valenciana, Murcia, Baleares, Andalucía, Aragón y País Vasco. Se ha introducido además en Extremadura y Madrid de forma puntual. *Ae. japonicus* es otro mosquito invasor recientemente encontrado en Asturias y en Cantabria, cuya capacidad vectorial para la infección sólo se ha demostrado en laboratorio.

En raras ocasiones la transmisión puede deberse a la transfusión de sangre procedente de donantes infectados, trasplante de órganos o tejidos, pinchazo con material infectado y salpicadura. La transmisión vertical es común en madres virémicas durante el parto, y no se descarta transmisión durante la lactancia materna aunque no se ha documentado ningún caso.

Periodo de incubación

El periodo de incubación es de entre 4 y 7 días (puede variar entre 3-14 días).

Periodo de transmisibilidad

Los enfermos son infectivos para el mosquito durante el periodo virémico que suele durar de 4 a 7 días (máximo 12 días), desde poco antes del periodo febril hasta el final del mismo. Los pacientes asintomáticos también desarrollan viremia y pueden transmitir la infección.

El periodo de incubación extrínseco, desde que un mosquito pica a una persona infectada hasta que a su vez es capaz de transmitir la enfermedad tras picar a un huésped susceptible, es en promedio de 8-10 días. Los mosquitos infectados permanecen infecciosos el resto de su vida, que en promedio es de 25 días, pero puede sobrevivir hasta 42 días dependiendo de las condiciones ambientales. La temperatura ambiente también puede modificar el tiempo que tarda el mosquito en volverse infectivo, disminuyendo a

temperaturas altas. Además, existe transmisión transovárica y venérea del virus durante la reproducción de los mosquitos, que puede contribuir al mantenimiento de los ciclos de transmisión, especialmente en los periodos inter-epidémicos.

Susceptibilidad

Toda persona es susceptible de infectarse por el virus del dengue. La infección por un serotipo determinado confiere inmunidad de larga duración frente al mismo (inmunidad homóloga) y solo por unos meses contra otros serotipos (inmunidad heteróloga). La infección puede presentarse de forma asintomática entre el 40 y el 80% de las personas infectadas. El principal factor de riesgo de padecer un dengue grave es la infección por un segundo serotipo diferente de este virus. Esto también puede ocurrir en los niños que tienen anticuerpos maternos, en sucesivas infecciones. Las embarazadas son otro grupo en riesgo de padecer dengue grave, sobre todo en el tercer trimestre, además de parto pretérmino y muerte fetal.

La única vacuna autorizada en el mundo no está aún aprobada en España y sólo está indicada en personas que hayan tenido infección por virus del dengue para reducir el riesgo de dengue grave en infecciones sucesivas. No se recomienda en personas que nunca han padecido dengue ya que puede incrementar la gravedad del mismo.

VIGILANCIA DE LA ENFERMEDAD

Objetivos

1. Detectar precozmente los casos importados, con el fin de establecer las medidas necesarias para evitar la aparición de casos secundarios y brotes autóctonos –sobre todo en áreas con presencia de vector competente– y de notificar la transmisión activa del virus en el lugar donde se adquirió la infección.
2. Detectar precozmente los casos autóctonos, con el fin de establecer las medidas de prevención y control para evitar la circulación del virus en nuestro país y prevenir y controlar los brotes autóctonos.

Definición de caso

Criterio clínico

— Fiebre¹ de aparición brusca, en ausencia de otro foco de infección

Y

Al menos DOS de los siguientes signos:

- Cefalea intensa
- Dolor retro-orbitario
- Mialgias
- Artralgias
- Lumbalgia
- Nauseas, vómitos
- Erupción cutánea

¹ Temperatura corporal $\geq 37,7$ °C, aunque para valorarlo se deberá tener en cuenta si el paciente ha tomado antitérmicos, está en situación de inmunodepresión o cualquier otra situación que pueda afectar a la temperatura corporal, como son los niños, ancianos, etc.

Criterios clínicos de dengue grave

- Extravasación grave de plasma con choque o acumulación de líquidos con distrés respiratorio.
- Hemorragia espontánea grave.
- Fallo orgánico grave (insuficiencia cardíaca, insuficiencia hepática)
- Alteración de la conciencia.

Criterio epidemiológico

- Residir o haber visitado áreas con transmisión actual de dengue en el plazo de 15 días anteriores a la aparición de los síntomas.
- Residir o haber visitado en el plazo de 15 días anteriores a la aparición de los síntomas áreas no endémicas con presencia de *A. albopictus* o *A. aegypti* en los periodos de actividad de los mismos.
- La infección ha tenido lugar al mismo tiempo y en la misma zona donde se han producido otros casos probables o confirmados de dengue.

Criterio de laboratorio

Al menos UNO de los siguientes criterios de confirmación:

- Aislamiento del virus en muestra clínica.
- Detección de ácido nucleico viral en muestra clínica.
- Detección de antígeno.
- Seroconversión de anticuerpos específicos del virus o aumento de cuatro veces el título en muestras recogidas con una separación de unos 15 días.
- Detección de anticuerpos IgM confirmada por neutralización

Criterio de laboratorio para caso probable

- La presencia de anticuerpos IgM en una muestra simple (no confirmada por neutralización)

En el Anexo II se encuentran disponibles las especificaciones de laboratorio para el diagnóstico de un caso de dengue.

Clasificación de los casos

Caso sospechoso: persona que cumple el criterio clínico y algún criterio epidemiológico.

Caso probable: persona que cumple el criterio clínico, algún criterio epidemiológico y el criterio de laboratorio de caso probable.

Caso confirmado: persona que cumple algún criterio de confirmación de laboratorio.

Se considerará un **caso autóctono** cuando el paciente haya pasado la totalidad de su periodo de incubación en España, o haya pasado parte del mismo en España y el resto en una zona donde no haya transmisión conocida de dengue ni presencia conocida del vector.

A **efectos de intervención** se considerará **brote**: la aparición de al menos un caso autóctono relacionado con vector. A **efectos de notificación**, se considerará **brote** a la detección de dos o más casos con una fuente de infección común distinta de viaje a zona con circulación conocida de virus.

MODO DE VIGILANCIA

La vigilancia de la enfermedad por virus dengue difiere en función de si se trata de un caso importado o de un caso autóctono y según la presencia o ausencia de actividad del vector competente en las diferentes zonas de España y las diferentes épocas del año. Se definen como zonas con actividad del vector, aquellas en las que un vector competente (en nuestro medio, *Ae. albopictus*) se encuentra establecido, en los meses desde el 1 mayo al 30 noviembre, salvo información más específica sobre los meses de actividad vectorial nivel local.

Todos los casos de dengue, probables o confirmados, se notificarán de forma obligatoria al CNE a través de la RENAVE. Se recogerá la información de forma individualizada según el conjunto de variables especificadas en la encuesta epidemiológica que se anexa. El CNE consolidará la información anualmente.

- En las zonas sin actividad del vector, los casos importados se notificarán al Servicio de Vigilancia de la Comunidad Autónoma con periodicidad mínima semanal, que a su vez notificará al CNE con periodicidad semanal.
- En las zonas con actividad del vector, los casos importados deben notificarse inmediatamente al Servicio de Vigilancia de la comunidad autónoma. El objetivo de esta notificación es que, en caso de actividad del vector, se pueda iniciar una investigación epidemiológica y entomológica para guiar la implementación de las medidas preventivas necesarias. La CA notificará al CNE con una periodicidad semanal.
- Cuando se detecte un caso autóctono, probable o confirmado, debe notificarse inmediatamente al Servicio de Vigilancia de la comunidad autónoma, que lo notificará de forma urgente al CCAES y al CNE. El CCAES valorará junto con las CCAA afectadas las medidas a tomar y, si fuera necesario, su notificación al Sistema de Alerta y Respuesta Rápida de Unión Europea y a la OMS de acuerdo con el Reglamento Sanitario Internacional (2005).

MEDIDAS DE SALUD PÚBLICA

Medidas preventivas

Las medidas preventivas de Salud Pública se centran en gran medida en la lucha contra el vector. Se debe hacer vigilancia entomológica, reforzada por proyectos comunitarios, para precisar la presencia de los vectores en las distintas zonas del territorio, su densidad, reconocer los hábitats con mayor producción de larvas, y promover programas para su eliminación, control o tratamiento con los mecanismos apropiados. Estas medidas frente al vector deben realizarse de forma rutinaria lo cual no sólo será favorable para la gestión de las situaciones de riesgo cuando se produzcan, sino que mejorará la calidad de vida de las personas.

Por otro lado, dado que es una enfermedad emergente, es muy importante la sensibilización tanto de la población general como de los profesionales sanitarios. Todos los sectores de la comunidad deben implicarse en las acciones para la prevención y control de esta enfermedad: educativos, sanitarios, ambientales, infraestructuras, etc.

Estas medidas deben estar integradas en los Planes de preparación y respuesta frente a enfermedades transmitidas por vectores que se desarrollen en los distintos niveles.

La educación dirigida a la población general es fundamental para que participe en las actividades de control en el ámbito peridoméstico, debido al comportamiento específico del vector transmisor. Se recomienda el desarrollo de herramientas de comunicación con mensajes preventivos específicos enfocados a reducir las superficies donde se facilite el desarrollo del mosquito (recipientes donde se acumule el agua, jardines y zonas verdes de urbanizaciones cercanas a las viviendas, fugas, charcos, residuos, etc.). Igualmente, en las zonas de actividad del vector, se recomendará a la población que tome medidas de protección

individual. El uso de mosquiteras en puertas y ventanas contribuiría a disminuir la población de mosquitos en el interior de las viviendas, sobre todo durante el día manteniéndolas cerradas. Se recomendará el uso de manga larga y de repelentes eficaces. Se utilizarían repelentes tópicos en las partes descubiertas del cuerpo y sobre la ropa. Algunos de eficacia probada son los repelentes a base de DEET (N, N-dietil-m-toluamida), permitido en niños mayores de 2 años y en embarazadas en concentraciones inferiores al 10%. También se puede utilizar otros con diferentes principios activos como Icaridina, IR3535[®] (etil-butil- acetil-aminopropionato) y citrodiol.

Es importante que *los profesionales sanitarios* estén informados del potencial riesgo de que se produzcan casos por esta enfermedad ya que facilitaría la detección precoz de los casos, mejoraría el tratamiento y el control de la enfermedad.

Medidas ante un caso, sus contactos y medio ambiente

Control del caso

No existe tratamiento específico ni profilaxis, por lo que se llevará a cabo el tratamiento sintomático y vigilancia de las complicaciones. Dado que no se transmite persona-persona (salvo de forma excepcional por transfusión, trasplante de tejidos, órganos y células o por transmisión vertical), se tomarán las precauciones estándar en el medio sanitario.

Especialmente en las zonas con presencia conocida del vector, ante la detección de un caso, incluso en el periodo de espera a los resultados del laboratorio, se recomendará que el paciente trate de evitar el contacto con los mosquitos mediante la protección individual a través de mosquiteras en la cama y en puertas y ventanas y el uso de manga larga y repelentes eficaces. El uso de aire acondicionado, los repelentes eléctricos y los biocidas autorizados para uso domésticos, pueden ayudar a reducir este contacto. Si el paciente se encontrara hospitalizado, el centro hospitalario establecerá las medidas necesarias para el aislamiento vectorial del paciente. Se deberán mantener estas precauciones hasta los 7 días posteriores a la fecha de inicio de síntomas (periodo virémico). En cualquier caso, se instará al paciente virémico a limitar sus desplazamientos y mantener las medidas de protección frente a picaduras, con el fin de limitar la posibilidad de infección de mosquitos de otras localidades.

Control del contacto y del medio ambiente

Si el caso se hubiera encontrado durante la totalidad de su periodo virémico (los 7 días posteriores a la fecha de inicio de síntomas) en zonas sin actividad del vector, no se requerirán medidas para el control de contactos y del medio ambiente.

Si el caso, importado u autóctono, se hubiera encontrado en zonas de actividad del vector durante su periodo virémico, se determinarán los lugares visitados por el paciente durante este periodo. En las zonas identificadas, para reducir el riesgo de transmisión local, se deberá realizar una investigación entomológica y aplicar las medidas de control vectorial necesarias. Igualmente, se reforzará la vigilancia epidemiológica con el fin de detectar de forma precoz la aparición de nuevos casos, lo que se hará mediante una notificación a los servicios médicos de Atención Primaria y Especializada de la zona donde el caso ha permanecido durante su periodo virémico.

Si se tratara de un caso autóctono, además se debe iniciar una investigación dirigida a tratar de identificar el caso primario, detectar otros casos autóctonos que hayan podido pasar desapercibidos, y determinar el riesgo de transmisión local. Se realizará una búsqueda retrospectiva de casos en el lugar donde se encontrara el paciente durante su periodo de incubación (los 15 días previos al inicio de los síntomas). La búsqueda retrospectiva debe cubrir, como mínimo, los 45 días² anteriores a la fecha de inicio de síntomas del caso, con el objetivo de tratar de identificar el caso primario que introdujo el virus en la zona. Además,

se realizará búsqueda activa de casos prospectiva, que deberá mantenerse igualmente hasta 45 días² después de la fecha de inicio de síntomas del último caso autóctono declarado. La búsqueda de casos, tanto retrospectiva como prospectiva, podrá realizarse mediante una alerta a los servicios médicos de Atención Primaria y Especializada y a los laboratorios clínicos, como por medios más exhaustivos como encuestas puerta a puerta, notificaciones a otras instituciones locales como escuelas etc., en función del riesgo de transmisión local. En relación a las medidas ambientales, se deberá realizar una investigación entomológica en las zonas donde el paciente estuvo durante el periodo de incubación y, en función de los resultados, implementar las medidas de control vectorial necesarias. Se realizarán campañas de información y sensibilización dirigidas a la población sobre las medidas preventivas de salud pública, fundamentalmente de protección individual y de lucha antivectorial en el peridomicilio.

Otras medidas de salud pública

Medidas de precaución para las donaciones de sangre

El Comité Científico de Seguridad Transfusional ha regulado las principales recomendaciones en relación a las donaciones de sangre de personas que han visitado áreas afectadas, así como de los residentes en las mismas. La mayoría de zonas en las que se detecta el virus del dengue son al mismo tiempo zonas endémicas de paludismo por lo que quedarían excluidas de la donación al quedar incluidas dentro de los criterios de exclusión del paludismo. Además, las personas provenientes de zonas en las que existe el virus, pero no paludismo, como es el caso de las Islas Reunión, Mauricio y Seychelles entre otras, serán excluidas durante 4 semanas (28 días) desde su regreso, y si han presentado o se ha sospechado fiebre de dengue durante su estancia en la zona, o a su regreso, se excluirán durante 6 meses.

Estas medidas se revisarán en caso de confirmación de transmisión local en una zona de España.

Recomendaciones a viajeros

Se recomienda la información a los viajeros que se dirijan a zonas endémicas sobre el riesgo de infección, el modo de transmisión, la sintomatología y el periodo de incubación. Se recomendará a los viajeros la adopción de las medidas de protección individual frente a vectores. Se les comunicará la importancia de acudir al médico si se produce fiebre y al menos un signo de dolor siguiente: cefaleas, mialgia, lumbalgia, dolor retro-orbitario y/o manifestaciones hemorrágicas que no se deban a otra causa médica, dentro de los 15 días siguientes a abandonar la zona endémica.

La actualización de las zonas endémicas está disponibles en la página:

<http://www.healthmap.org/dengue/index.php>

En el siguiente enlace se puede consultar la información actualizada para la región de las Américas (OPS):

<http://www.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue.html>

Envío de muestras al Centro Nacional de Microbiología

Para el envío de muestras se seguirán las instrucciones del Anexo II.

² Este periodo corresponde al doble del tiempo medio de duración del ciclo de transmisión completo: desde que un mosquito se infecta al picar a una persona virémica, hasta el final de la viremia del siguiente caso (periodo de incubación extrínseco + periodo de incubación + periodo de viremia).

BIBLIOGRAFÍA

1. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Dengue Testing Guidance. Available from: <https://www.cdc.gov/dengue/healthcare-providers/testing/testing-guidance.html> [consultado 6 de mayo de 2019]
2. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Evaluación Rápida de Riesgo. Primeros casos de dengue autóctono en España. Actualización noviembre 2018. Madrid: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social; 2018.
3. Chan M, Johanson MA. The incubation periods of dengue viruses. *PlosOne*. 2012;7(11):e50972.
4. DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2018/945 DE LA COMISIÓN de 22 de junio de 2018 sobre enfermedades transmisibles y problemas sanitarios especiales relacionados que deben estar sujetos a vigilancia epidemiológica, así como las definiciones de casos pertinentes.
5. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. W.H.O. (WHO), Editor. 2009.
6. Duong V et al. Asymptomatic humans transmit dengue virus to mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(47):14688-93.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Local transmission of dengue fever in France and Spain 2018. 22 October 2018. Stockholm: ECDC; 2018.
8. Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(3):480–96.
9. Guo C, Zhou Z, Wen Z, Liu Y, Zeng C, Xiao D, et al. Global Epidemiology of Dengue Outbreaks in 1990–2015: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2017 Jul 12 [cited 2019 Feb 8];7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5506197/>
10. Hasan S, Jamdar SF, Alalawi M, Al Ageel Al Beajji SM. Dengue virus: A global human threat: Review of literature. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016;6(1):1–6.
11. Heymann L. El control de las enfermedades transmisibles. 20ª Edición. Washington, D.C.: OPS, Asociación Americana de Salud Pública, 2015.
12. Lucientes J, Molina R. Informe de 2017 de la Vigilancia entomológica en aeropuertos y puertos frente a enfermedades infecciosas exóticas y Vigilancia de potenciales vectores autóctonos de dichas enfermedades. Departamento de patología animal de la Universidad de Zaragoza e Instituto de Salud Carlos III.
13. Paixão ES, Teixeira MG, Costa M da CN, Rodrigues LC. Dengue during pregnancy and adverse fetal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jul 1;16(7):857–65.
14. Pang T, Mak TK, Gubler DJ. Prevention and control of dengue—the light at the end of the tunnel. *Lancet Infect Dis*. 2017 Mar;17(3):e79-e87
15. Sánchez-Vargas I, Harrington LC, Doty JB, Black WC 4th, Olson KE. Demonstration of efficient vertical and venereal transmission of dengue virus type-2 in a genetically diverse laboratory strain of *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018 Aug 31;12(8):e0006754.
16. Tomasello D, Schlagenhauf P. Chikungunya and dengue autochthonous cases in Europe, 2007-2012. *Travel Med Infect Dis*. 2013;11(5):274-84.
17. Wilder-Smith A, Ooi EE, Horstick O, Wills B. Denge. *Lancet* 2019; 393: 350-63
18. World Health Organization. Global Strategy for dengue prevention and control 2012-2020. Geneva: Neglected Tropical Diseases WHO; 2012.

ANEXO I. ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA DE DENGUE

DATOS DEL DECLARANTE Y DE LA DECLARACIÓN

Comunidad Autónoma declarante:

Identificación del caso para el declarante:

Fecha de la primera declaración del caso ¹: / /

Identificación del laboratorio²:

DATOS DEL PACIENTE

Identificación del paciente³:

Fecha de nacimiento: / /

Edad en años: Edad en meses en menores de 2 años:

Sexo: Hombre Mujer

Lugar de residencia:

País: C. Autónoma:

Provincia: Municipio:

País de nacimiento: Año de llegada a España:

DATOS DE LA ENFERMEDAD

Fecha del caso ⁴: / /

Fecha de inicio de síntomas: / /

Manifestación clínica (marcar las opciones que correspondan):

- | | | |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> Artralgia | <input type="checkbox"/> Cefalea | <input type="checkbox"/> Derrame seroso |
| <input type="checkbox"/> Dolor abdominal intenso y continuo | <input type="checkbox"/> Dolor retroorbitario | <input type="checkbox"/> Erupción cutánea |
| <input type="checkbox"/> Fiebre | <input type="checkbox"/> Hepatomegalia | <input type="checkbox"/> Lumbalgia |
| <input type="checkbox"/> Mialgia | <input type="checkbox"/> Petequias (prueba del torniquete positivo) | |
| <input type="checkbox"/> Sangrado de mucosas | <input type="checkbox"/> Vómitos persistentes | |

Para dengue grave:

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Alteraciones de consciencia (somnolencia, irritabilidad) | <input type="checkbox"/> Shock hipovolémico |
| <input type="checkbox"/> Sangrado grave | <input type="checkbox"/> Fallo multiorgánico |

Otros signos comunes (marcar las opciones que correspondan):

- | | | |
|--|-------------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> Trombocitopenia | <input type="checkbox"/> Leucopenia | <input type="checkbox"/> Aumento de transaminasas |
|--|-------------------------------------|---|

Complicaciones: Sí No

Hospitalizado ⁵: Sí No

Fecha de ingreso hospitalario: / / Fecha de alta hospitalaria: / /

Defunción: Sí No

Fecha de defunción: / /

Lugar del caso ⁶:

País: **C. Autónoma:**

Provincia: **Municipio:**

Importado⁶: Sí No

Desplazamiento en los 7 días posteriores al inicio de síntomas (viremia)

Desplazamiento a otra Comunidad Autónoma: Sí No En caso afirmativo:

C. Autónoma:

Provincia: **Municipio:**

Desplazamiento a otro país: Sí No En caso afirmativo:

País: **Región/municipio:**.....

DATOS DE LABORATORIO

Fecha de recepción en el laboratorio fuente: / /

Fecha de diagnóstico de laboratorio: / /

Agente causal Virus del dengue **Serotipos:** 1 2 3 4

Muestra (marcar la muestra principal con resultado positivo):

Sangre

Suero

LCR

Prueba (marcar las pruebas positivas en la muestra principal):

Ácido Nucleico, detección (PCR)

Antígeno, detección

Aislamiento

Anticuerpo, IgM

Anticuerpo, seroconversión

Anticuerpos neutralizantes

Envío de muestra al Laboratorio Nacional de Referencia del CNM (LNR): Sí No

Identificación de muestra del declarante al LNR:.....

Identificación de muestra en el LNR:.....

DATOS DEL RIESGO

Desplazamientos en los 15 días previos a la fecha de inicio de síntomas:

Desplazamiento al extranjero: Sí No

Lugar y país:

Fecha de ida: / /

Fecha de regreso: / /

Motivo de estancia en país endémico (marcar una de las siguientes opciones):

Inmigrante recién llegado

Otro

Trabajador temporal

Turismo

Visita familiar

Desplazamiento dentro de España: Sí No

C. Autónoma: Fecha de ida: / /

Fecha de regreso:..... / /

Exposición (marcar una de las siguientes opciones):

- Contacto con mosquitos
- Ha recibido: transfusiones o hemoderivados, hemodiálisis, transplantes..., sin especificar
- Persona a Persona: Madre-Hijo. Es un recién nacido de madre infectada o portadora
- Otra exposición Especificar cuál: _____

CATEGORIZACIÓN DEL CASO

Clasificación del caso (marcar una de las siguientes opciones):

- Probable
- Confirmado

Criterios de clasificación de caso:

- Criterio clínico Sí No
- Criterio epidemiológico Sí No
- Criterio de laboratorio Sí No

Categoría diagnóstica (marcar una de las siguientes opciones):

- Dengue grave ⁸
- Dengue no grave

Asociado:

A brote: Sí No

Identificación del brote:

C. Autónoma de declaración del brote⁹:

OBSERVACIONES ¹⁰

.....
.....
.....

1. Fecha de la primera declaración del caso: Fecha de la primera declaración al sistema de vigilancia (habitualmente realizada desde el nivel local).
2. Los códigos y literales están disponibles en el fichero electrónico.
3. Nombre y Apellidos.
4. Fecha del caso: Es la fecha de inicio de síntomas o la más cercana en caso de no conocerla (fecha de diagnóstico, fecha de hospitalización, etc...).
5. Hospitalizado: Estancia de al menos una noche en el hospital.
6. Lugar del caso (país, CA, prov., mun.): Es el lugar de exposición o de adquisición de la infección, en general, se considerará el lugar donde el paciente ha podido contraer la enfermedad. En caso de desconocerse se dejará

- en blanco.
7. Se considerará un caso autóctono cuando no haya antecedente de viaje en los 15 días anteriores al inicio de síntomas a una zona con transmisión conocida de dengue. Si no hay antecedente de viaje a zona con transmisión del virus en los 15 días anteriores, se valorará la clasificación como caso autóctono de chikungunya si durante el periodo de incubación ha estado en una zona con presencia y actividad del vector
 8. Dengue grave: Choque hipovolémico, Manifestaciones hemorrágicas y fallo multi-orgánico.
 9. C. Autónoma de declaración del brote: aquella que ha asignado el identificador del brote.
 10. Incluir toda la información relevante no indicada en el resto de la encuesta.

ANEXO II. DIAGNÓSTICO DE DENGUE

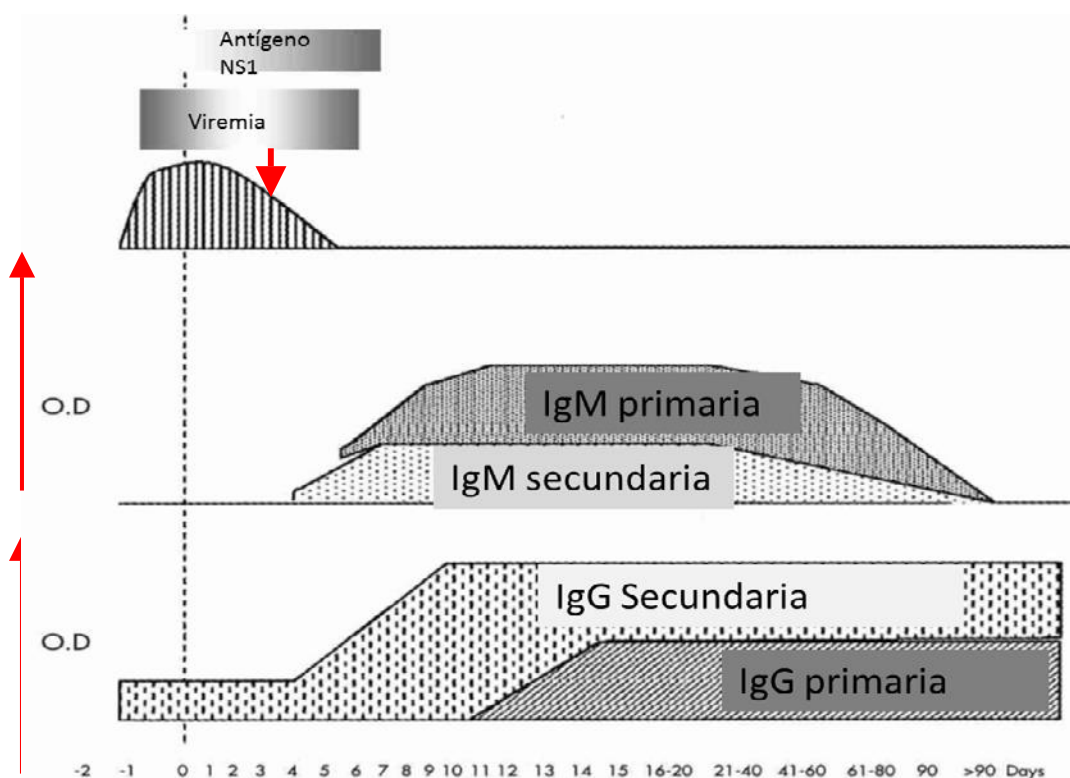
El diagnóstico de laboratorio se hará, bien en las Comunidades Autónomas en caso de que dispongan de las técnicas diagnósticas apropiadas o bien mediante el envío de las muestras del paciente al laboratorio de referencia del Centro Nacional de Microbiología (CNM). Es importante que el resultado del laboratorio esté correctamente confirmado para evitar falsos positivos.

El diagnóstico de confirmación de un caso autóctono debe hacerse en el CNM. También se enviarán aquellos casos que requieran la confirmación del diagnóstico y la caracterización del virus detectado.

La elección de una técnica diagnóstica u otra está en función del momento en que se toma la primera muestra y el tiempo que ha pasado desde el inicio de síntomas. El aislamiento del virus, la detección del ácido nucleico y la detección de antígenos se pueden realizar hasta el quinto día desde el inicio de síntomas (duración de la viremia) aunque hay casos en los que se puede detectar. Al final de la fase aguda de la infección la serología constituye el método de elección. Para este método se necesitarían dos muestras de suero pareadas tomadas con una separación de 15 días. La IgM específica aumenta y es detectable en el 50% de los pacientes alrededor de los días 3 a 5 después del comienzo de síntomas, aumenta al 80% de pacientes para el día 5 y en el 99% de los pacientes se detecta en el día 10. En las infecciones que se producen en un huésped previamente infectado por otro serotipo, la IgM aparece generalmente a los 2 o 3 días del comienzo de la enfermedad, y tiene una duración muy corta. Respecto a los anticuerpos IgG, se pueden detectar en títulos bajos al final de la primera semana de la enfermedad, y aumentan lentamente desde entonces, pudiendo ser detectables desde varios meses siguientes a toda la vida.

Por todo ello, se recomienda que se cite al paciente a los 15 días de la primera toma de muestra. Si bien, no sería necesaria la segunda muestra si en la primera se detecta ARN viral o se aísla al virus.

Figura 1. Curva de marcadores diagnósticos para dengue



Fuente: Organización Panamericana de la Salud. Dengue. Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. 2009

Tabla 1. Lista de métodos diagnósticos para dengue, características y requerimientos

Método	Espécimen	Toma muestra	Tiempo para resultados	Requerimiento
Cultivo viral: Aislamiento viral en células de mosquito (C6/36), o Vero e identificación por Inmunofluorescencia	Suero*, sangre total, tejidos, LCR	1-5 días de iniciado los síntomas (fase virémica)	5-10 días	BSL3, instalaciones de cultivo celular
Detección de genoma PCR en tiempo real y PCR convencional)	Suero*, sangre total, tejidos, LCR	1-6 días de iniciado los síntomas (fase aguda)	1-2 días	Instalaciones para biología molecular
Detección de antígeno NS1	Suero	1-10 días de iniciado los síntomas (fase aguda)	1 día (ELISA) 1 hora (tiras rápidas)	Equipamiento para ELISA

Método	Espécimen	Toma muestra	Tiempo para resultados	Requerimiento
ELISA IgM captura	Suero	4-5 días de iniciado los síntomas	1-2 días	Equipamiento para ELISA
ELISA IGg (sueros pareados)	Suero	1º. Suero:5-6 días de iniciado los síntomas y el 2º.más de 14 días	1-2 días	Equipamiento para ELISA
Anticuerpos neutralizantes	Suero	5-14 días	7-10 días	BSL3, Cultivo

Fuente: Organización Panamericana de la Salud. Dengue. Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. 2009.

*Muestra de preferencia

La orina es una muestra en evaluación que puede dar información relevante para el diagnóstico de este virus.

Métodos y protocolos en uso en el Centro Nacional de Microbiología, ISCIII

Métodos directos

• **Cultivo viral:** en células de mosquitos (*Ae. albopictus*, C6/36 HT) y en células Vero E6.

• **Detección de genoma:**

1. **PCR en tiempo real:** método diseñado en la región 3` no codificante. PCR en tiempo real de tipo “singleplex” que emplea sondas Taqman, detecta los 4 serotipos de virus dengue pero no los diferencia. El resultado que se obtiene es si en la muestra se detecta o no genoma de virus dengue.

2. **PCR convencional:**

– **Método nested específico** que amplifica la región C terminal del gen de la envuelta y el N terminal de la proteína no estructural 1 (E/NS1). Es un método multiplex que detecta los 4 serotipos y los diferencia según el tamaño del producto amplificado. Además, por secuenciación del fragmento amplificado, se obtiene información para filogenia y epidemiología molecular³.

– **Método nested genérico** diseñado en el gen de la polimerasa viral (NS5). Detecta los 4 serotipos del dengue y además otros flavivirus patógenos como Fiebre Amarilla, Virus del Nilo Occidental Usutu, Encefalitis japonesa y de San Luis, flavivirus, patógenos o no. Por secuenciación del producto amplificado se identifica el flavivirus que está presente en la muestra⁴.

³ Domingo et al. Molecular surveillance of circulating dengue genotypes through European travelers. J Travel Med. 2011; 18(3):183-90

⁴ Sánchez-Seco et al. Generic RT-nested PCR for detection of flaviviruses using degenerated primers and internal control followed by sequencing for

- **Detección de antígeno NS1:** Método comercial basado en un ELISA tipo sándwich. Platelia™ Dengue NS1 Ag-ELISA (Biorad Laboratories, Marnes-La-Coquette, Francia)⁵.

Métodos indirectos

- **Detección de IgM:** Método de ELISA comercial basado en la captura de anticuerpos tipo IgM⁶.
- **Detección de IgG:** Método comercial de ELISA indirecto.
- **Estudio de avidez de IgG:** Basado en el método anterior, con tratamiento previo de la muestra con urea para determinar la avidez de anticuerpos tipo IgG y discriminar infecciones primarias de secundarias⁷.

Métodos rápidos para el diagnóstico de dengue (bajo evaluación pero no en uso en el CNM, ISCIII): SD Dengue Duo Bioline (STANDARD DIAGNOSTICS), que combina la detección de antígeno NS1 y la detección de anticuerpos IgM/IgG⁸.

Envío de muestras al Centro Nacional de Microbiología

Se utilizará la aplicación informática **GIPI**. Se seguirán las instrucciones, tanto para el envío y tipo de las muestras, como para la solicitud del estudio de brotes; todo ello de acuerdo con los permisos establecidos para los responsables de las comunidades autónomas. Se requiere proporcionar información sobre tiempo de inicio de síntomas y de toma de muestra y sobre lugar del viaje. Los teléfonos de contacto para el envío de la muestra son:

Área de Orientación Diagnóstica Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III
Carretera Majadahonda-Pozuelo, km 2 28220
Majadahonda-Madrid-ESPAÑA
Tfo: 91 822 37 01 - 91 822 37 23 - 91 822 3694
CNM-Área de Orientación Diagnóstica <cnm-od@isciii.es>

specific identification. J Virol Methods. 2005; 26(1-2):101-9.

⁵ Lima et al. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of dengue in Brazil. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4 (7):e738.

⁶ Panbio® (E-DEN01M).

⁷ Domingo et al. Molecular and serologic markers of acute dengue infection in naïve and flavivirus-vaccinated travelers. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009; 65(1):42-8.

⁸ Blacksell, SD., et al, Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: the need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody detection to achieve acceptable levels of accuracy. Clin Vaccine Immunol.2011; 18(12):2095-101