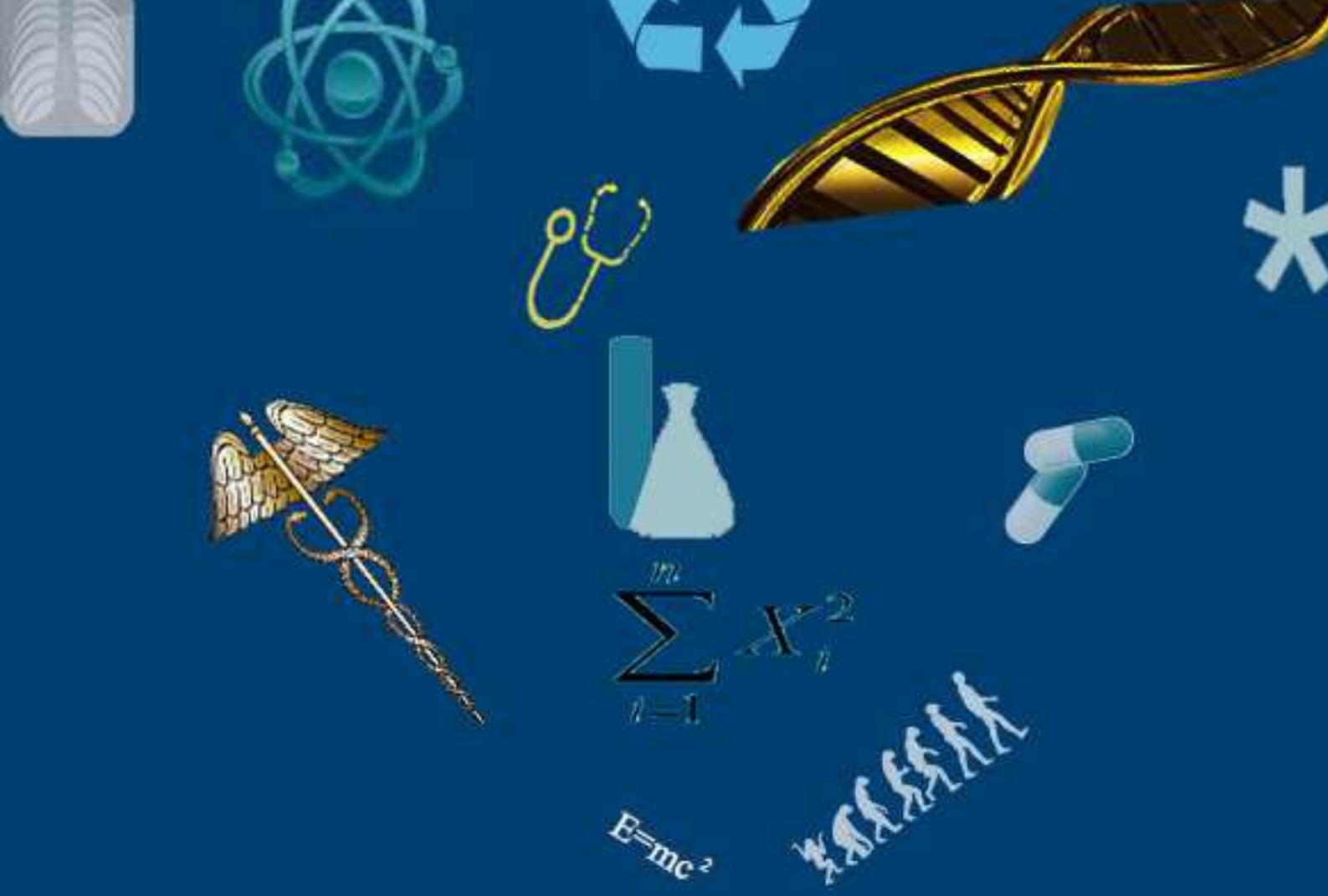


Revista del Instituto de Medicina Tropical

ISSN 1996 - 3696
Julio 2012 - Volumen 7 - Número 1
Asunción - Paraguay

© 2012
Revista del Instituto de Medicina Tropical
ISSN 1996-3696
Asunción – Paraguay

Tirada semestral

Versión electrónica disponible en:
www.imt.edu.py
http://scielo.iics.una.py

Revista del Instituto de Medicina Tropical (ISSN 1996-3696) es una revista de publicación semestral, de distribución libre y gratuita, publicada por el Instituto de Medicina Tropical. Número inaugural publicado el 15 de diciembre de 2007. Dirección para correspondencia y suscripción Avda. Venezuela casi Florida. Tel/Fax. (+595 21) 292 164. Asunción - Paraguay.
Foto portada: Instituto de Medicina Tropical.
Los trabajos y opiniones que se publican en la revista son de exclusiva responsabilidad de los autores. La revista se reserva todos los derechos sobre los mismos.
La revista está integrada a **SCIENTIFIC ELECTRONIC LIBRARY ON LINE (SciELO)**. http://scielo.iics.una.py

Revista *del* Instituto *de* Medicina Tropical
Asunción - Paraguay

Dr. Oscar Merlo Faella
Director General

Dra. Nidia Mendoza
Directora Médica

Prof. Dr. Antonio H. Arbo Sosa
Editor

Biol. Gabriela Sanabria
Secretaria Técnica de Edición

[COMITÉ EDITORIAL]

Dr. Gustavo Aguilar. Universidad Nacional de Asunción. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Silvio Apodaca. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Gustavo Benítez. Universidad Católica Ntra. Sra. de la Asunción. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Nidia Cáceres de Mendoza. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Carlos Kunzle. Universidad del Pacífico. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Dolores Lovera. Universidad Católica Ntra. Sra. de la Asunción. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Rosa Mayor. Instituto de Medicina Tropical
Dra. Cristina San Miguel. Universidad Nacional de Asunción. Instituto de Medicina Tropical

[CONSEJO EDITORIAL]

Prof. Dr. Salvador Addario. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Nicolás Aguayo. Programa Nacional de Control de Enfermedades de Transmisión Sexual. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.
Dr. Iván Allende. Dirección General de Vigilancia Epidemiológica. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.
Dr. Eugenio Báez. Instituto de Previsión Social.
Prof. Dr. José Bellasai. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Enrique Courselles. Academia Nacional de Medicina.
Prof. Dra. Ana Campuzano de Rolón. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Prof. Dr. Esteban Grassi. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Adolfo Galeano. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dr. Fernando Hamuy. Universidad de las Naciones Unidas. Instituto de Medicina Tropical.
Dr. Juan Domingo Maciel. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Julio Manzur. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dra. Celia Martínez de Cuellar. Programa Nacional de Control de Tuberculosis. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.
Dr. Adolfo Morínigo. Instituto de Medicina Tropical
Dr. Duillo Núñez. Instituto de Previsión Social.
Prof. Dr. Roger Rolón. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Asunción
Dra. Gloria Samudio. Hospital Nacional de Itagua
Prof. Dra. Ramona Valdez. Programa Nacional de Control de Enfermedades de Transmisión Sexual. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.

Institute of Tropical Medicine

Publication of Institute of Tropical Medicine

Department of Public Health and Social Well-being

Asunción - Paraguay

Vol. 7 July, 2012 Nº 1

C O N T E N T

Editorial

04 Dengue, gravity and serotypes
Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa, Dra. Dolores Lovera

Letters to the Editor

06 Without Publication there is no Science
Lic. Biol. Gabriela Sanabria

Original Articles

08 Serological and Virological Characteristics of Patients with Severe Dengue and Deaths by Dengue During the Epidemic of 2011 in Paraguay
Dres. Cynthia Vázquez, Maria Liz Gamarra, Shirley Villalba, Maria Jose Ortega, Angelica Oviedo, et. al.

19 HIV co-infection with hepatitis B virus (HBV) and Hepatitis C (HCV) in the Reference Laboratory of the National Control of HIV / AIDS
Dres. Gladys López, Dr. Isisdro Insfran,

Clinic Case

27 Skin Sepsis by Community S. aureus
Dres. Juan Mallorquín, Aurelia Taboada, Gustavo Benítez

31 Instruction for authors

Revista del Instituto de Medicina Tropical

Publicación del Instituto de Medicina Tropical

Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social

Asunción - Paraguay

Vol. 7 Julio 2012 Nº 1

C O N T E N I D O

Editorial

04 Dengue, gravedad y serotipos
Prof. Dr. Antonio Arbo, Dra. Dolores Lovera

Carta al Editor

06 Sin Publicación no hay Ciencia
Lic. Biol. Gabriela Sanabria

Artículos Originales

08 Características Virológicas y Serológicas de Pacientes con Dengue Grave y Fallecidos por Dengue Durante la Epidemia del Año 2011 en Paraguay
Dres. Cynthia Vázquez, Maria Liz Gamarra, Shirley Villalba, Maria Jose Ortega, Angelica Oviedo, et. al.

19 Coinfección VIH con Hepatitis B (Hvb) y Hepatitis C (Hvc) en el Laboratorio de Referencia del Programa Nacional de Control de VIH/SIDA
Dres. Gladys López, Isisdro Insfrán,

Caso Clínico

27 Sepsis en piel a S. aureus comunitario
Dres. Juan Mallorquín, Aurelia Taboada, Gustavo Benítez

31 Instrucción para autores

Editorial

Dengue, gravedad y serotipos

Dengue, gravity and serotypes

Prof. Dr. Antonio Arbo, Dra. Dolores Lovera
Ministro de Salud Pública y Bienestar Social. Departamento de Pediatría. Instituto de Medicina Tropical. Universidad Nacional de Asunción

El dengue representa actualmente la infección arboviral de mayor importancia epidemiológica y clínica de las Americas con consecuencias socioeconómicas dramáticas (1, 2). Se estima que anualmente el dengue impone un costo económico en el continente de 2.1 billones de dólares por año (2).

Aunque la mayoría de los casos de infección por el virus del dengue son asintomáticos o clínicamente leves, considerándose que por cada caso clínico ocurren 6-10 casos asintomáticos (3), diferentes ápices están reportando incremento en el número de muertes con cada epidemia. Esta situación ocurre en el Paraguay. Como muestra de esta situación es el número de muertes de la epidemia del primer trimestre del 2012 donde se han reportado 62 muertes comparada con la epidemia del 2007 donde solo 7 muertes fueron reportadas (Dirección de Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud Pública).

Múltiples factores influyen en la gravedad de los casos. Sin ninguna duda, la edad (ambos extremos de la vida), la presencia de comorbilidad como tratamiento quimioterápico, enfermedades oncohematológicas, la diabetes, el tratamiento con anticoagulantes, la infección por el virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH) se encuentran en los determinantes de mayor riesgo de gravedad (4). Además de la presencia de factores de comoribildad, el tratamiento adecuado de los casos impacta en la mortalidad. En ese sentido, es importante que todo el sistema de salud esté preparado para asistir a casos sospechosos de dengue como también son fundamentales poseer guias claras de tratamiento así como que los hospitales dispongan de manuales de contingencia para responder a un incremento súbito de los casos.

Uno de los aspectos que influyen en la presencia de casos graves y mortalidad en una epidemia dependen de si los casos prevalentes son primarios o secundarios (5). En la epidemia del año 1989 en el Paraguay prácticamente no se observaron casos graves o fatales pues representaba la primera exposición de la población al virus del dengue, el serotipo 1. Sin embargo con las sucesivas oleadas de la enfermedad progresivamente fueron observándose casos secuenciales de infección por serotipos diferentes y es así que en la epidemia del 2007 (principalmente dengue 3) se observaron 7 muertes y en la epidemia del 2012 (cocirculación de dengue 2 y 1) alrededor de 62 muertes registradas, epidemias en las cuales el número de casos secundarios fueron significantes.

Igualmente, el serotipo viral se ha relacionado con gravedad y mortalidad. Aunque existen reportes contradictorios, prevalece la observación que los serotipos 2 y 3 del dengue se asocian a mayor mortalidad. El trabajo de Vazquez C. y col publicado en el presente número de la revista aportan al conocimiento del dengue la experiencia de la epidemia del dengue del Paraguay durante el 2001.

Estudiando 60 muestras de casos graves por dengue (entre los que se incluyeron 42 pacientes fallecidos) se pudo confirmar fehacientemente que el 70 % de los casos fueron secundarios, hecho reportado por Halsted hace ya mas de 3 décadas (6). Otro aporte importante del estudio es la confirmación de la asociación de la severidad de los casos con el serotipo. Entre 25 casos graves o que fallecieron en los que se pudo identificar el serotipo por RT-PCR, el 80% de los casos correspondieron a infecciones por el serotipo 2 y solo el 20% al serotipo (1).

Estos datos sugieren que con el aumento del porcentaje de la población que ya ha experimentado uno o más episodios de infección por el virus del dengue, más casos de formas graves y mortales sucedan en el Paraguay si no se toman medidas de anticipación. El involucramiento de todos los actores sociales, gobierno central, intendencia, organizaciones de la sociedad civil y ciudadanía son fundamentales para mitigar los efectos del virus del dengue.

Referencias

1. San Martin JL, Brathwaite O, Zambrano B, Solorzano JO, Bouckenooghe A, Dayan GH, Guzman MG. The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: a worrisome reality. Am J Trop Med Hyg 2010; 82:128-135
2. Shepard D, Coudeville, Halasa Y, Zambrano B, Dayan GH. Economic Impact of Dengue illness in the Americas. Am J Trop Med Hyg 2011; 84(2):200-207
3. Simmons CP, Farrar JJ, Van Vinh Chau N, Wills B. Dengue N Engl J Med 2012:366:1423-1432
4. Almas A, Parkash, Akhter J. Clinical Factors associated with mortality in dengue infection at tertiary care center 2010;41:333-340
5. Rigau-Perez JG, Laufer MK. Dengue-relatade deaths in Puerto Rico, 1992-1996: diagnosis and clinical alrm signals. Clin Infect Dis 2006 1; 42: 1241-6
6. Halstead SB. Antibody, macrophages, dengue virus infection, shock, and hemorrhage: a pathogenetic cascade. Rev Infect Dis 1989;11:Suppl 4:S830-S839

Solicitud de Sobretiros:
Prof. Dr. Antonio Arbo
Departamento de Docencia e Investigación
Instituto de Medicina Tropical
Asunción, Paraguay
antonioarbo@hotmail.com

Carta al Editor

Sin Publicación no hay Ciencia

Without Publication there is no Science

Lic. Biol. Gabriela Sanabria, Dpto. de Investigación IMT.

El Prof. Rojas de la Universidad del Zulia en su artículo Por que publicar artículos científicos? 2008, Cita "…La actividad científica es un modo de ser, de pensar, de hacer y de sentir. Un modo de vivir la vida", ese modo de vida implica el acto de comunicarse (1).

Muchos pensaran que la ciencia nada tiene que ver con la comunicación en si, que la ciencia esta reservada para algunos pocos y la comunicación es, al final de todo, la habilidad innata del ser humano al alcance de todos.

Y peor aún, algunas veces, esos pocos elegidos, olvidan que escribir y publicar son una de las principales tareas de los científicos, de hecho, se considera ciencia solo cuando las investigaciones son publicadas y discutidas por pares (2).

Así es que me planteo dos cuestiones, que a lo largo de este tiempo en el que me considero investigadora, llegan a mi mente, la primera de ellas es la gran confusión que existe entre comunicar y divulgar, coincidamos que la ciencia es comunicación, comunicación es compartir el saber, e investigar implica el "saber ser" de una actividad científica que nos ofrece un resultado que conocemos como artículo científico que al final sirve para comunicar lo que hemos investigado.

Por otro lado está el conocimiento divulgativo o el acto de divulgar, que no es exactamente un conocimiento popular producto de los sentidos, sino es conocimiento científico popularizado. Y eso me lleva a pensar en la segunda cuestión; cuando se habla de popularizado no quiere decir que el conocimiento pierde rigor científico o mucho menos que el conocimiento "se baja" a nivel del público, el comunicador debe tener la habilidad de transmitir sus conocimientos a todo tipo de público sin desmerecer a los que no son pares, subestimando la capacidad de nuestro interlocutor.

Creer que uno no va a entender es menospreciar la inteligencia del público e implica la autolimitación del profesional como comunicador (cuando se refiere a pares) y divulgador científico cuando su fin ultimo debe ser llegar a la mayor cantidad de público.

Necesitamos fomentar la comunicación científica desde el vamos, ya que hablar de una sociedad del conocimiento requiere que la sociedad tenga acceso a información, la entienda y actúe sobre ella, la sociedad que está informada, reconoce la importancia de la ciencia para el desarrollo, lo que a la larga influye de manera positiva en toda la población (3).

Referencias

1. Rojas, LR ¿Por Qué Publicar Artículos Científicos? Orbis, 2008; 10 (4); 120-137
2. Mendizabal, V. Ciencia y Medios. IDEC - Universitat Pompeu Fabra, 2012;6-12

Rev. Inst. Med. Trop 2012;7(1):6-7

3. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Periodismo y Comunicación Científica en América Latina. Estado Actual y Desafíos. Buenos Aires, Argentina, 2010; 33-71

Solicitud de Sobretiros:
Biol. Gabriela Sanabria B.
Postgrado en Comunicación Científica, Médica y Ambiental – Univ. Pompeu Fabra
Diplomado en VIH / ITS / SIDA – PRONASIDA - Instituto Nacional de Salud
investigación_docencia@imt.edu.py

Artículo original

Características Virológicas y Serológicas de Pacientes con Dengue Grave y Fallecidos por Dengue durante la Epidemia del Año 2011 en Paraguay

Serological and Virological Characteristics of Patients with Severe Dengue and Deaths by Dengue during the Epidemic of 2011 in Paraguay

Dres. Cynthia Vázquez, Shirley Villalba, Maria Liz Gamarra, Elva Oviedo, Angelica Oviedo, Maria Jose Ortega, Carmen Arellano, Wilson Paredes, Sonia Figueredo, Luis Ramirez, Juan Torales, Pamela Dunjo, Karen Nielsen, Jose Pereira, Mercedes Carrillo. Laboratorio Central de Salud Pública (LCSP)

Paraguay recorded dengue epidemics since 1989, and periods of sustained viral circulation in endemic form from 2009. But the epidemic of 2011, could be considered the most severe that has hit the country, not only in numbers of reported cases, but also in the severity of clinical manifestations and the number of confirmed deaths. To describe the virological and serological features of severe dengue patients died of dengue in 2011 in Paraguay analyze 60 samples from patients with severe dengue (42 of them dead) by ff. methods: MAC-ELISA protocol (CDC), Dx Focus IgG ELISA, Biorad Platelia NS1 ELISA, virus isolation and RT-PCR protocol Harris. 58% of the cases studied were women. The most affected age group was 20 to 39 years. 70% of the studied population had antibody titers compatible with secondary dengue. The predominant serotype was the Den-2 in 80% of cases with serotype identified and Den-1 in the 20% remaining. IgM were positive in 64% of the samples analyzed. The overall sensitivity was 53% NS1 and IgM combined with up to 91%. In a dengue endemic country like Paraguay, with a high percentage of the population with secondary immune response, requires the combination of all available laboratory tools to increase diagnostic sensitivity, especially in severe and fatal cases
Keywords: Epidemiology, ELISA, NS1

Resumen

El Paraguay registra epidemias de dengue desde el año 1989, y periodos de circulación viral sostenida en forma endémica a partir del año 2009. Sin embargo la epidemia del año 2011, podría considerarse la más severa que ha sufrido el país, no solo en números de casos reportados, sino también en la severidad de las manifestaciones clínicas y el número de muertes confirmadas. Con el fin de describir las características virológicas y serológicas de pacientes con dengue grave y fallecidos por dengue durante el año 2011 en Paraguay analizamos 60 muestras de pacientes con dengue grave (42 de ellos fallecidos) por los sgtes. métodos: MAC-ELISA (protocolo

Rev. Inst. Med. Trop 2012;7(1):8-18

CDC), ELISA IgG Focus Dx, ELISA NS1 Platelia Biorad, Aislamiento viral y RT-PCR protocolo Harris. El 58% de los casos analizados fueron mujeres. El grupo de edad más afectado fue el de 20 a 39 años. El 70% de la población estudiada presentó títulos de anticuerpos compatibles con Dengue secundario. El serotipo predominante fue el Den-2 en el 80% de los casos con serotipo identificado y Den-1 en los 20% restantes. IgM resultaron positivas en un 64% de las muestras analizadas. La sensibilidad global de NS1 fue de 53%, y combinada con IgM subió al 91%. En un país endémico para dengue como el Paraguay, con alto porcentaje de su población con respuesta inmunológica secundaria, se requiere de la combinación de todas las herramientas de laboratorio disponibles para aumentar la sensibilidad del diagnóstico, especialmente en los casos graves y fatales.

Palabras claves: *Epidemiología, ELISA, NS1*

Introducción

El dengue es la enfermedad transmitida por artrópodos más prevalente en las regiones tropicales, en los últimos años su incidencia ha aumentado 30 veces, y se estima que anualmente ocurren 50 millones de infecciones por dengue (1).

Existen 4 tipos de virus dengue (DENV-1, -2, -3, y -4), serológicamente relacionados pero antigénica y genéticamente diferentes, causantes de enfermedad en humanos. Aunque la mayoría de las infecciones se presentan como una enfermedad febril leve y hasta asintomática, los 4 serotipos son capaces de producir la forma más grave y potencialmente fatal de la enfermedad; y complicaciones sistémicas no específicas (p.e. encefalitis, hepatitis) (1-3).

La variación de la sintomatología del dengue puede estar ocasionada tanto por factores virales como inmunológicos. (4,5) En numerosos estudios se ha observado, que infecciones secuenciales o secundarias por virus dengue, tienden a producir cuadros severos. (6-10) Se han postulado otros factores relevantes en la patogénesis del FHD: virus de cepas específicas virulentas, (11-13) predisposición genética a enfermedad severa en ciertas poblaciones; (14,15) y otros factores de riesgo como edad, sexo y estado nutricional.(16-18) Aunque estas hipótesis no son totalmente exclusivas, y se cree que varias de ellas podrían estar involucradas en el desarrollo de formas graves de la enfermedad, ya sea que la patogénesis severa es causada por inmuno-amplificación o por algún otro mecanismo, se necesitan herramientas para el diagnóstico laboratorial específico, a fin de orientar medidas apropiadas de prevención, tratamiento y control, y de mantener datos epidemiológicos precisos.

El Paraguay es un país con historia de importantes epidemias de dengue desde el año 1989 (19,20) y periodos de circulación viral sostenida en forma endémica a partir del año 2009. Sin embargo la epidemia de dengue que afectó a todo el territorio nacional durante el año 2011, puede ser considerada la más severa que ha sufrido el país, en términos no solamente de números de casos reportados (más de 50.000), sino también en cuanto a la severidad de las manifestaciones clínicas y el número de muertes confirmadas (21).

Es así que el objetivo de esta investigación fue escribir las características virológicas y serológicas de pacientes con dengue grave y fallecidos por dengue durante el año 2011 en Paraguay.

Materiales y métodos

Fueron seleccionadas 60 muestras de pacientes (42 de ellos fallecidos) con diagnóstico clínico de dengue grave según la clasificación de la OMS del año 2009 1, recibidas en el LCSP durante la epidemia de dengue del año 2011 en Paraguay. Las muestras estuvieron acompañadas de fichas clínico-epidemiológicas con los siguientes datos: identificación, sexo, edad, procedencia, síntomas clínicos, historia de viajes en las semanas previas y antecedentes de haber padecido la enfermedad anteriormente. Aunque

en algunos casos no pudimos obtener la totalidad de los datos requeridos.

La infección por dengue fue confirmada en los casos seleccionados, mediante las pruebas detalladas a continuación:

MÉTODOS SEROLÓGICOS.

ELISA de captura para anticuerpos IgM anti-Dengue (MAC ELISA). Con el protocolo del Center for Disease Control and Prevention de Puerto Rico (CDC) (22, 23), utilizando una mezcla de los cuatro antígenos de Dengue producidos en el LCSP en cerebro de ratón lactante.

Se utilizan microplacas de polyvinilo recubiertas con IgG de cabra anti-IgM humana (comercial) en una dilución 1:200 con buffer Carbonato/Bicarbonato (pH 9,6), obtenidas por agregado de 100 µL/pocillo e incubación a 4°C toda la noche. Se descarta el contenido de los pocillos, se lavan 3 veces con PBS (pH 7,4), se bloquean con 150 µL /pocillo de PBS con 4% de albúmina bovina a 37°C por 15 minutos, se descarta el contenido y se lavan tres veces con PBS (pH 7,4). Los sueros en estudio y los controles se diluyen 1:40 con PBS con 0,5% de albúmina bovina y se cargan 50 µL /pocillo, se incuban a 37°C por una hora, se descarta el contenido y se lavan tres veces con PBS (pH 7,4). Se prepara una mezcla (MIX) de los cuatro antígenos en proporciones determinadas por titulación de los mismos con el conjugado. Se agrega 50 µL /pocillo de la mix de antígenos en una dilución 1:10 con PBS con 20% de suero equino normal (SEN) y se incuba a 4°C toda la noche.

Se realizan tres lavados con PBS (pH 7,4), se agrega 25 µL /pocillo del conjugado en una dilución de 1:6000 con PBS con 20% de SHN y se incuba a 37°C por una hora. Finalmente, se realizan cinco lavados con PBS (pH 7,4), se agrega 100 µL/pocillo de sustrato comercial ABTS (A/B), se incuba a 37°C por 15 minutos y se determina la absorbancia a una longitud de onda de 405-410 nm. Para calcular los resultados, se determina el promedio de la densidad óptica (DO) de cada suero (las muestras deben correrse en duplicado) y se resta el promedio de la DO de los controles negativos. Un DO mayor o igual a 0,2 indica un resultado positivo.

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. Diluciones seriadas de las muestras de suero fueron analizadas, y aquellas con títulos equivalentes a Inhibición de la hemaglutinación (IHA) ≥1:2560, fueron consideradas infecciones secundarias.

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.

METODOS VIROLOGICOS Y MOLECULARES

-Aislamiento viral. Inoculación de muestras de suero en cultivo de células C6/36 de mosquito Aedes albopictus 24. Las células son crecidas a 28°C en medio MEM (Minimal Essential Medium) suplementado con 0,1% de Bicarbonato de Sodio, 100 U/ml de Penicilina, 10 µg/ml de Estreptomicina y 10% de suero fetal bovino (medio de crecimiento). Para el aislamiento se siembran las células en una concentración aproximada de 1.105 cel/ml en frascos de 25 cm2 y se incuban a 28°C por 24 a 48 horas.

Una vez formada la monocapa, se descarta el sobrenadante y se agrega 2 ml de medio con 2% de suero fetal bovino (medio de mantenimiento) y 50 µL del suero del paciente

en el lado opuesto de la monocapa para mezclarlo con el medio antes de bañar las células. Después de la adsorción de una hora a 28°C se agregan 5 ml de medio de mantenimiento. Las células infectadas se mantienen a 28°C durante 7 días y se observan diariamente para detectar algún efecto citopático (ECP). Se descarta el medio, se agrega medio de mantenimiento nuevo y se incuba a 28°C hasta el 14° día. Se cosechan las células y se realiza la inmunofluorescencia indirecta para la identificación del aislamiento.

-Inmunofluorescencia indirecta. Para tipificación de los virus aislados, utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra cada uno de los serotipos del virus Dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) 24, provistos por FIOCRUZ, RJ Brasil.

La suspensión celular obtenida se distribuye sobre las láminas, se secan a temperatura ambiente, se fijan con acetona fría a -20°C durante 15 minutos y se secan a temperatura ambiente. Sobre la muestra fijada se agregan los anticuerpos monoclonales anti DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4 en una dilución 1:10 y se incuban a 37°C por 30 minutos en cámara húmeda. Se realizan dos lavados con Buffer Fosfato Salino (PBS) de pH 7,6 y se secan a temperatura ambiente. Se agrega el conjugado (Flourescent goat anti-mouse Gamma Globuline for indirect flourescent testing), se incuba a 37°C por 30 minutos en cámara húmeda, se realizan dos lavados con PBS y se deja secar a temperatura ambiente. Sobre la lámina se añade una pequeña cantidad de glicerina-PBS (1:10) y se coloca el cubre-objeto. Finalmente, se observan las láminas bajo un microscopio para flourescencia y se valoran las muestras positivas y negativas teniendo en cuenta lo observado en los controles que deben incluirse en cada experiencia. La florescencia específica se describe como citoplasmática, perinuclear.

Extracción de ARN viral: el ARN viral fue extraído a partir de cada muestra clínica o aislado, 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.

Transcripción reversa y reacción en cadena de la Polimerasa (RT-PCR):

Para la detección y tipificación de virus dengue en muestras originales y sobrenadantes del primer pasaje en cultivo celular, fue realizada mediante 2 protocolos diferentes: una RT-PCR en un solo paso de acuerdo al protocolo descrito por Eva Harris et al.25, y una nested PCR según protocolo de Morais Bronzoni et al. (26)

Resultados

Durante la epidemia de dengue del año 2011 en Paraguay, se realizó en el LCSP la confirmación laboratorial de infección por dengue en más de 5000 muestras de casos sospechosos, entre ellos lograron ser identificados 60 casos de dengue grave (42 de ellos fallecidos), los cuales fueron objeto del presente estudio. En la Tabla 1 se muestran las características demográficas e inmunológicas de los pacientes estudiados. El 58 % de los pacientes de clasificados como dengue grave, fueron mujeres. La mediana de edad fue de 58 años (rango de 0 a 89 años), siendo el grupo de 20 a 39 años el más afectado, seguido por el de 60 años y más (Gráfico 1). El 70 % de los pacientes estudiados presentaron un patrón de respuesta secundaria de anticuerpos contra dengue, característica predominante en todos los grupos de edades. La mayoría de los casos

provenían del Departamento Central y de la Capital (Gráfico 2). No fue posible acceder a muestras de fallecidos con sospecha de dengue en servicios de salud privados, principalmente los de la X Región Sanitaria.

Tabla 1. Características demográficas e inmunológicas de pacientes estudiados. Año 2011

Variable	Nº de Casos (%)
Sexo	
Masculino	25 (42)
Femenino	35 (58)
Edad	
mediana /rango	58/(0 -89)
Región Sanitaria	
II	2 (3)
IV	2 (3)
V	1 (2)
X	5 (8)
XI	24 (40)
XVII	3 (5)
XVIII	23 (39)
Respuesta Inmunológica	
primaria	14 (23)
secundaria	42 (70)
no determinado	4(7)

Figura 1. Distribución de casos confirmados de dengue grave primario y secundario por grupos de edades. Año 2011

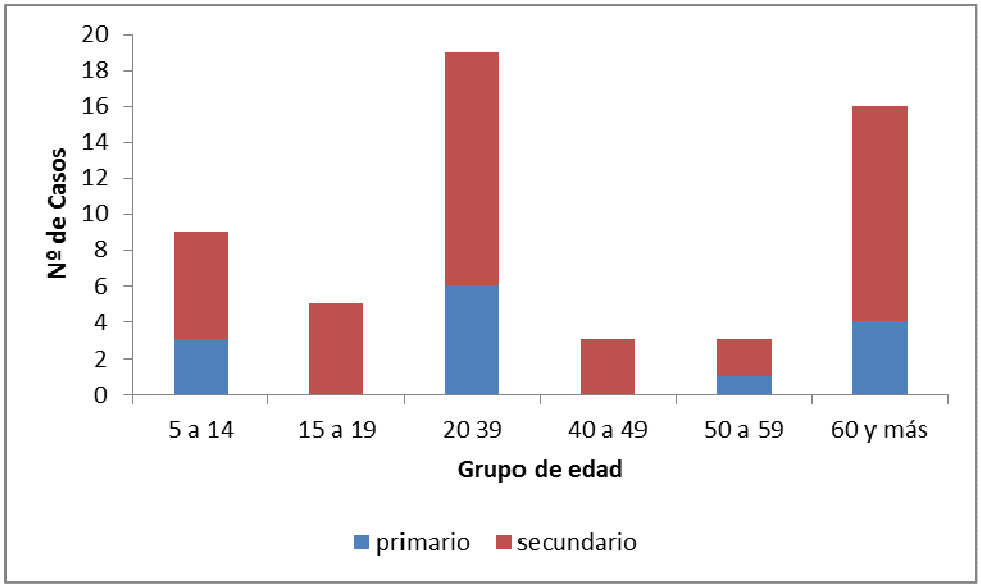
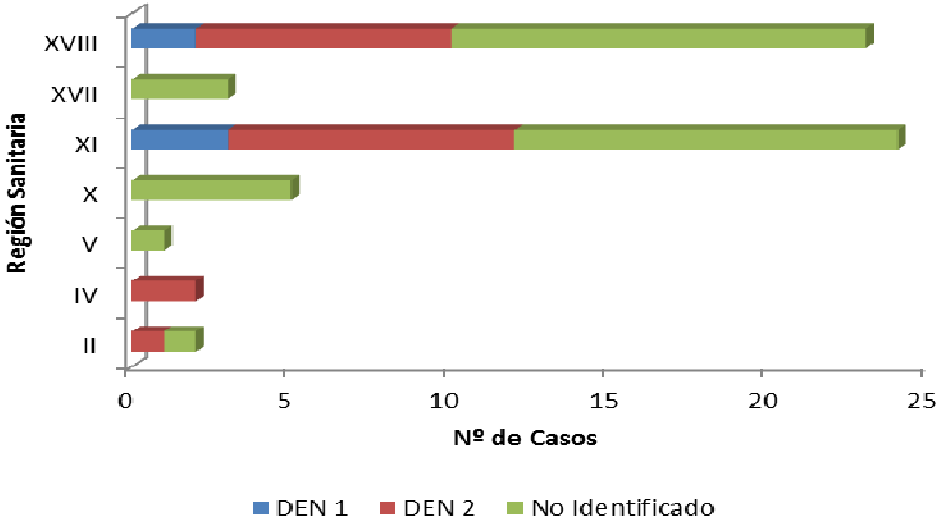


Figura 2. Distribución de casos confirmados de dengue grave según región sanitaria. Año 2011



El 53% de las muestras recibidas provenían de pacientes con más de 5 días de evolución, el 33% de pacientes de 1 a 5 días de evolución y en el 14 % restantes no se obtuvieron datos en cuanto días de evolución. En la mayoría de los casos fueron realizadas todas las pruebas disponibles, pero en algunos, la muestra no fue suficiente y se priorizaron las pruebas más recomendadas según la etapa de toma de muestra. En la Tabla 2 se resumen los resultados de las pruebas realizadas.

En el 44 % (25/56) de los pacientes con muestra disponible pudo ser identificado el serotipo de dengue, entre los cuales el más frecuente fue el DENV-2, siendo causante del 80% de los casos identificados, mientras que el DENV-1 fue responsable del 20% restante.

Fue realizada la detección de anticuerpos tipo IgM en el 64% (36/56) de la muestras testadas. La prueba de detección de Antígeno NS1 resultó positiva en 28 de las 53 muestras analizadas, arrojando una sensibilidad global de 53% comparada con el conjunto de las demás pruebas realizadas, de los 25 casos confirmados por otras pruebas y que resultaron negativos para NS1, 21 correspondieron a casos de dengue secundario. La sensibilidad del ELISA NS1 para el diagnóstico de los pacientes estudiados, fue de 62% (8/13) en los casos de dengue primario, y de 45% (18/40) en los casos de dengue secundario. Comparada con la RT-PCR la sensibilidad de la detección de NS1 fue del 68% (17/25), de las 8 muestras negativas, 5 correspondieron a casos de dengue secundario. La combinación de las detecciones de IgM y antígeno elevó la sensibilidad del diagnóstico a 91%.

Tabla 2. Resultados de pruebas virológicas y serológicas realizadas según días de evolución de pacientes. Año 2011

	IgM			NS1			RT-PCR/Aislamiento			
Días de evolución	Neg	Pos	NR	Neg	Pos	NR	DEN 1	DEN 2	Neg	NR
>5	8	23	1	17	11	4	2	9	18	3
1 a 5	9	8	3	5	13	2	3	9	8	
SD	3	5		3	4	1		2	5	1
Total general	20	36	4	25	28	7	5	20	31	4

Neg = Negativo; Pos = Positivo; NR = No Realizado

La mayoría de los casos de dengue grave y fatales, se registraron entre las semanas epidemiológicas 13 a 18 (Gráfico 3), lo que corresponde a la fase de descenso de la curva epidémica del dengue en el año 2011 (Gráfico 4).

Figura 3. Distribución de casos confirmados de dengue grave y fallecidos por semana epidemiológica. Año 2011

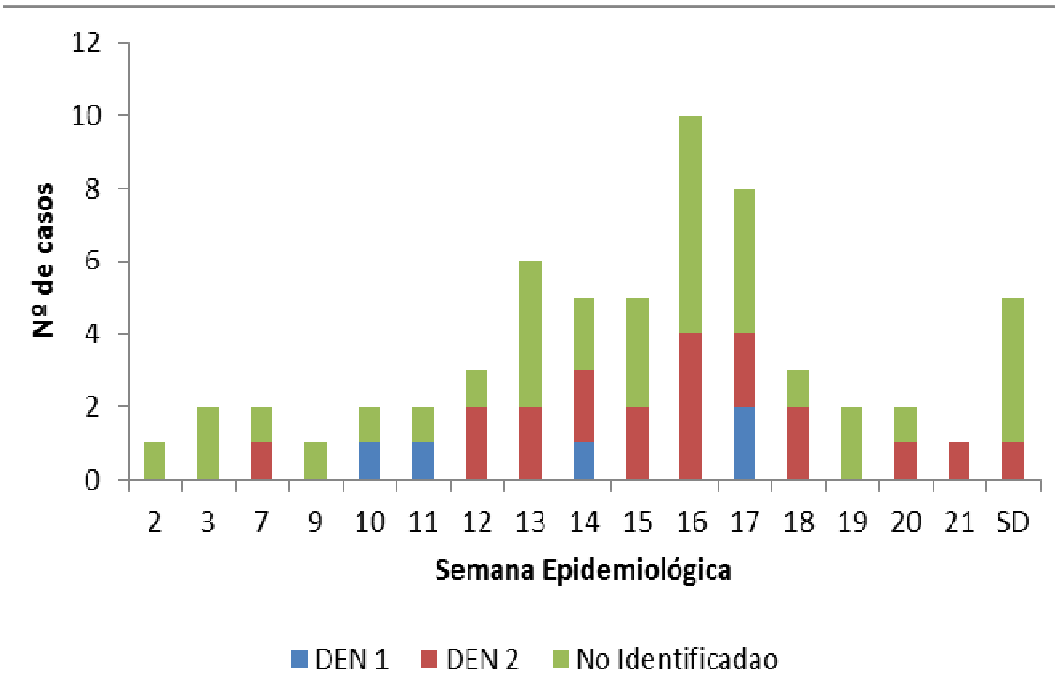
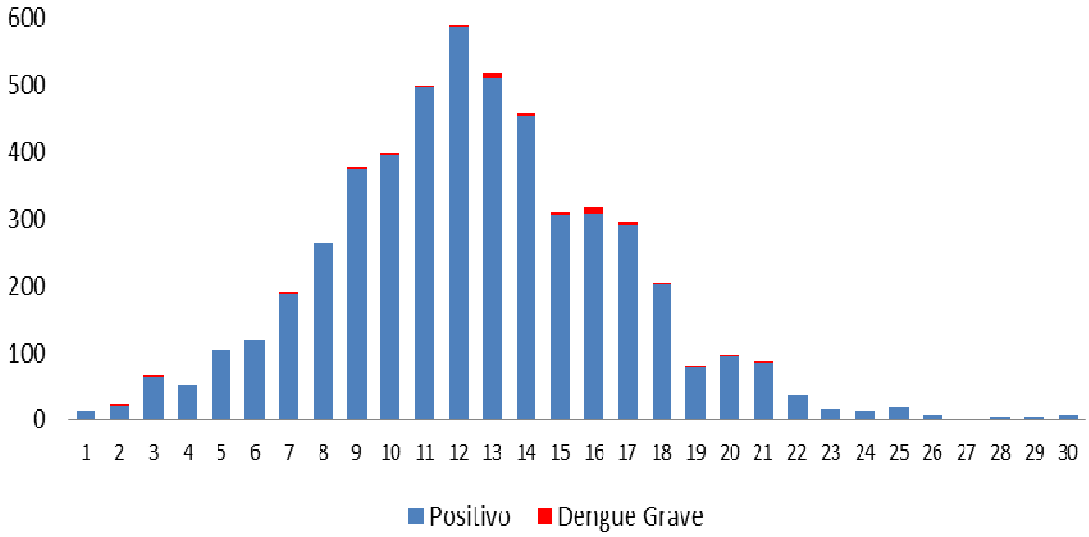


Figura 4. Total de casos de Dengue confirmado por laboratorio. Año 2011



Los signos y síntomas más comúnmente encontrados, se detallan en la Tabla 3. La presencia de signos de alarma se constató en más del 50% de los casos analizados.

Tabla 3. Características Clínicas de los pacientes estudiados. Año 2011

Síntomas	Frecuencia	Signos	Frecuencia
Fiebre	83%	Petequias	20%
Cefalea	72%	Oligoanuria	17%
Mialgia	68%	Epistaxis	13%
Artralgia	60%	Gingivorragia	12%
Nausea	55%	Inyeccion conjuntival	12%
Dolor Abdominal	52%	Edema Bipalpebral	12%
Vómitos	48%	Ictericia	8%
Exantema	15%	Hepatomegalia	8%
Tos	13%	Esplenomegalia	7%
Prurito	7%	Hemoptisis	5%
Taquipnea	20%	Hematemesis	3%

Discusión y Conclusión

A diferencia de otras enfermedades virales auto limitadas, la infección por dengue puede convertirse en pocos días en la forma grave que pone en peligro la vida. Por este motivo, es deseable contar con un diagnóstico precoz, así como con marcadores potenciales que puedan predecir el riesgo de evolución posterior a la forma grave a fin de mejorar el manejo clínico de la infección por dengue. Esto podría reducir el uso innecesario de antibióticos, la hospitalización de los pacientes con enfermedades más leves en países con recursos limitados y permiten la hospitalización temprana y tratamiento de soporte de aquellos que estarían desarrollando el potencialmente mortal dengue grave (27).

Reportamos aquí las características virológicas y serológicas observadas en 60 casos clasificados como dengue grave durante la epidemia de dengue del año 2011 en Paraguay. Como era de esperar y ya se ha descrito ampliamente (4, 28-30), los casos de dengue grave fueron más frecuentes en la infección secundaria. El serotipo más prevalente en los casos graves observados en nuestro estudio fue el DENV-2, lo que coincide con datos publicados previamente por Vaughn et al. (28) que informó que el DENV-1 causó derrame pleural menos grave que las infecciones secundarias por DENV-2, pero no menos que con DENV-3 y DENV-4. Existen además otras investigaciones que reportan mayor severidad de las infecciones, cuando el DENV-2 es el segundo serotipo infectante en casos de dengue secundario, mientras que describen casos leves en las primoinfecciones por este serotipo (31,32).

La detección de la proteína NS1 del virus dengue por ELISA o métodos inmuno-cromatográficos, se convirtió en la prueba más popular para el diagnóstico precoz del dengue en los últimos años (33-37). La modesta sensibilidad global de la prueba, reportada aquí (53%), se debe probablemente a la gran cantidad de infecciones secundarias (70%) lo que refleja la verdadera situación en Paraguay y otros países hiperendémicos para dengue. De hecho, se registró una menor sensibilidad de la prueba ELISA NS1 en las infecciones secundarias en comparación con las infecciones primarias (45% vs 62%). Los anticuerpos anti-NS1 son más frecuentes en la infección secundaria del dengue30 y el complejo antígeno-anticuerpo

impide la capacidad de la prueba para detectar NS1 libre (38-39).

Cuando el ensayo de antígeno NS1 se acopló con el MAC-ELISA, la sensibilidad aumentó al 91%. Esta combinación de la prueba de detección de antígeno NS1 y detección de anticuerpos IgM para el diagnóstico del dengue mostró una mayor sensibilidad que la RT-PCR sola y que la detección de IgM sola. Cuando se realiza en conjunto, la detección de NS1 e IgM parece ser muy sensible y complementarias, lo que permite un suficientemente buen diagnóstico durante la fase aguda y la fase de convalecencia de la enfermedad. Esta ventaja de la combinación fue positivamente demostrada en un estudio multicéntrico por Guzman et al. (40).

Ninguna de las pruebas virológicas o serológicas realizadas en este estudio, pudo detectar en forma individual el 100% de los casos estudiados, en conclusión, en un país endémico para dengue como el Paraguay, con alto porcentaje de su población con respuesta inmunológica secundaria, se requiere de la combinación de todas las herramientas de laboratorio disponibles para aumentar la sensibilidad del diagnóstico, especialmente en los casos graves y fatales.

Referencias

1. World Health Organization (WHO) and the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR) Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO; 2009. New Edition.
2. Duong V, Vong S, Buchy P. [Dengue and other arboviral diseases in South-East Asia]. Med Trop (Mars) 2009 69: 339–344.
3. Solomon T, Mallewa M. Dengue and other emerging flaviviruses. J Infect 2001 42: 104–115.
4. Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science 1988;239:476–81.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Rosen L. The pathogenesis of dengue haemorrhagic fever: a critical appraisal of current hypotheses. S Afr Med J 1986; (Suppl):40–2.
12. 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.
13. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, et al. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. J Virol 1999;73:4738–47.
14. Chiewsilp P, Scott RM, Bhamarapravati N. Histocompatibility antigens and dengue hemorrhagic fever. Am J Trop Med Hyg 1981;30:1100–5.
15. 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.
16. 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.
17. Anto S, Sebodo T, Sutaryo, Suminta, Ismangoen. Nutritional status of dengue haemorrhagic fever in children. Paediatrics Indonesia 1983;23:15–24.
18. Thisyakorn U, Nimmannitya S. Nutritional status of children with dengue hemorrhagic fever. Clin Infect Dis 1993;16:295–7.
19. Boletín Epidemiológico República del Paraguay. La epidemia de dengue del 99. Ed. Páez M. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Año 5 N° 17 1999:1-4
20. 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
21. Boletín epidemiológico y semanal. Dirección General de Vigilancia de la Salud. 2011 Octubre Nº39.
22. 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.
23. Kuno G, Gómez I, Gubler DJ. An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infections. J Virol Methods 1991; 33: 101-13
24. 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.
25. 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.
26. de Morais Bronzoni RV, Baleotti FG, Ribeiro Nogueira RM, Nunes M, Moraes Figueiredo LT. Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian alphaviruses and flaviviruses. J Clin Microbiol. 2005 Feb;43(2):696-702.
27. Duong V, Ly S, Lorn Try P, Tuiskunen A, Ong S, Chroeung N, Lundkvist A, Leparc-Goffart I, Deubel V, Vong S, Buchy P. Clinical and virological factors influencing the performance of a NS1 antigen-capture assay and potential use as a marker of dengue disease severity. PLoS Negl Trop Dis. 2011 Jul;5(7):e1244. Epub 2011 Jul 19.
28. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, et al. (2000) Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. J Infect Dis 181: 2–9.
29. Guzman MG, Kouri G, Valdes L, Bravo J, Alvarez M, et al. (2000) Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997. Am J Epidemiol 152: 793–799; discussion 804.
30. Koraka P, Burghoorn-Maas CP, Falconar A, Setiati TE, Djamiatun K, et al. (2003) Detection of immune-complex-dissociated nonstructural-1 antigen in patients with acute dengue virus infections. J Clin Microbiol 41: 4154–4159.
31. Sierra B, Perez AB, Vogt K, Garcia G, Schmolke K, Aguirre E, Alvarez M, Kern F, Kourí G, Volk HD, Guzman MG. Secondary heterologous dengue infection risk: Disequilibrium between immune regulation and inflammation?Cell Immunol. 2010;262(2):134-40. Epub 2010 Feb 10.
32. Guzman MG, Vazquez S. The complexity of antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. Viruses. 2010 Dec;2(12):2649-62. Epub 2010 Dec 8
33. Dussart P, Labeau B, Lagathu G, Louis P, Nunes M, Rodrigues S, Storck-Herrmann, Cesaire R, Morvan J, Flamand M, Baril L. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. Clinical and Vaccine Immunology 2006; 13:1185-1189.
34. Kumarasamy V, Chua SK, Hassan Z, Wahab AHA, Chem YK, Mohamad M. Evaluating the sensyvity of a comercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. Singapore Med J 2007; 48(7):669-673.

35. Lapphra K, Sangcharaswichai A, Chokephaibulkit K, Tiengrim S, Piriyakarnsakul W, et al. (2008) Evaluation of an NS1 antigen detection for diagnosis of acute dengue infection in patients with acute febrile illness. Diagn Microbiol Infect Dis 60: 387–391.
36. Blacksell SD, Mammen MP Jr., Thongpaseuth S, Gibbons RV, Jarman RG, et al. (2008) Evaluation of the Panbio dengue virus nonstructural 1 antigen detection and immunoglobulin M antibody enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of acute dengue infections in Laos. Diagn Microbiol Infect Dis 60: 43–49.
37. Tricou V, Vu HT, Quynh NV, Nguyen CV, Tran HT, et al. (2010) Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. BMC Infect Dis 10: 142.
38. Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, et al. (2002) High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. J Infect Dis 186: 1165–1168.
39. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W (2000) An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. J Clin Microbiol 38: 1053–1057.
40. Guzman MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Ty Hang VT, Sekaran SD, et al. (2010) Multi-Country Evaluation of the Sensitivity and Specificity of Two Commercially-Available NS1 ELISA Assays for Dengue Diagnosis. PLoS Negl Trop Dis 4.

Solicitud de Sobretiros:
Dra. Cyntia Vazquez
Laboratorio Central de Salud Pública
cynthiavlm@yahoo.com

Artículo original

Coinfección VIH con Hepatitis B (Hvb) y Hepatitis C (Hvc) en el Laboratorio de Referencia del Programa Nacional De Control de VIH/SIDA

HIV co-infection with hepatitis B virus (Hbv) and Hepatitis C (Hcv) in the Reference Laboratory of the National Control of HIV / AIDS

Dres. Gladys López, Isisdro Insfrán, *PRONASIDA*

Background:. In 17 months 1585 PLWHA were studied to detect co-infection with hepatitis B and C. Of these patients 981 (61.89%) were male and 604 (38.11%) were female.
The age range of the patients at the time of the study was 15 to 74 years resulting median 32 years, with a percentile, p 25-75 (25-40). The 65.85% of the study population were aged between 25 and 44 years.
Of the study population, in the time of HBV and HCV serology 670 (42.27%) were newly diagnosed PLWHA (less than 30 days) and 915 (57.73%) had a previous diagnosis of HIV / AIDS (greater to 30 days).
The prevalence of co-infection of HIV / HVB found was 3.96% (61/1.539) *. When analyzing the prevalence by sex yielded the following data: the co-infected total prevalence was 5.65 1.20 in males in females, the most prevalent age range was 15 to 24 years (* 95% CI = 3.05 - 5.06)
Statistically significant difference was observed between the prevalence of HBV between male and female. For every 10 women with HIV co-infection / HVB, they found 50 men with co-infection (OR 4.94, 95% CI 2.21-12.94).
No statistically significant differences were observed between the prevalence by age group and time of diagnosis of HIV and HBV.
In cases of co-infection HIV / HBV 51.72 found men who have sex with men (MSM) and the range of CD4 counts of 2-280 with a median of 269 with percentile p 25-75 (79 - 455)
The prevalence of co-infection of HIV / HCV found was 2.97% (44/1.483) *. When analyzing the prevalence by sex yielded the following data: the total co-infected was a prevalence of 3.37 in males 2.31 in females, the most prevalent age range was 15 to 24 years (* 95% CI = 2.16 to 3.96)
No statistically significant differences were observed between the prevalence by sex, age group and time of diagnosis among HIV / HCV.
Keywords: Coinfection, Hepatitis, Paraguay

Rev. Inst. Med. Trop 2012;7 (1):19-26

Resumen

En 17 meses fueron estudiadas 1.585 PVVS para la detección de la co-infección con hepatitis B y C. De estos pacientes 981 (61,89%) eran del sexo masculino y 604 (38,11%) correspondían al sexo femenino.

El rango de edad de los pacientes en el momento del estudio fue de 15 a 74 años resultando la mediana de 32 años, con un percentil, p 25-75 (25-40). El 65,85% de la población estudiada tenían edades comprendida entre 25 y 44años.

De la población estudiada, en el momento de realizarse serología para HVB y HCV 670 (42,27%) eran PVVS recién diagnosticadas (menor a 30 días) y 915 (57,73%) contaban con diagnóstico previo de VIH/SIDA (mayor a 30 días).

La prevalencia de la co-infección de VIH/HVB encontrada fue de 3,96% (61/1.539)*. Al analizar la prevalencia según sexo se obtuvieron los siguientes datos: del total de co-infectados resultó una prevalencia de 5,65 en el sexo masculino 1,20 en el sexo femenino, el rango etario con mayor prevalencia fue de 15 a 24 años (* IC 95%= 3,05- 5,06)

Se observó diferencia estadísticamente significativa entre la prevalencia de HVB entre el sexo masculino y femenino. Por cada 10 mujeres con co-infección VIH/HVB, se encontraron 50 hombres con co-infección (OR 4,94; IC95% 2.21-12.94).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias según grupo de edad y el tiempo de diagnóstico entre VIH y VHB.

En los casos de co-infección VIH/VHB se encontró 51,72 hombres que tienen sexo con hombre (HSH) y el rango de recuento de linfocitos CD4 de 2 a 280 con una mediana de 269 con percentil p 25-75 (79-455)

La prevalencia de la co-infección de VIH/HCV encontrada fue de 2,97% (44/1.483)*. Al analizar la prevalencia según sexo se obtuvieron los siguientes datos: del total de co-infectados resultó una prevalencia de 3,37 en el sexo masculino 2,31 en el sexo femenino, el rango etario con mayor prevalencia fue de 15 a 24 años (* IC 95% = 2,16- 3,96)

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias según sexo, grupo de edad y el tiempo de diagnóstico entre VIH/HCV.

***Palabras Clave**: Coinfección, Hepatitis, Paraguay.*

Introducción

Las coinfecciones con el virus de la hepatitis C (HCV) y/o virus de la hepatitis B (HBV) en pacientes infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) son hallazgos frecuentes en virtud a las similares vías de transmisión.

Las PVVS con coinfección con HBV tienen mayor riesgo a desarrollar cirrosis hepática, enfermedad hepática terminal y muerte por patología hepática, especialmente en pacientes con recuento de linfocitos TCD4 bajos y uso concomitante de alcohol (1)

Hay un mayor riesgo de hepatocarcinoma y efectos adversos hepatotóxicos en PVVS con TARV y coinfectados con hepatitis B (2)

El 95% de las infecciones por VHB en adultos sanos son autolimitadas con eliminación del VHB de la sangre e inmunidad duradera contra la reinfección. La infección crónica sucede en menos del 5% de los pacientes mayores de 5 años de edad (3,4). Los pacientes inmunosuprimidos tales como los pacientes con VIH, los que se encuentran en terapia de sustitución renal y los diabéticos presentan un riesgo mayor de cronicidad de la infección por el VHB (5,6). Aproximadamente 15% de los pacientes con infección crónica mayores de 5 años pueden evolucionar hacia cirrosis y cáncer

hepático, permaneciendo asintomáticos hasta la aparición de las manifestaciones clínicas de dichas complicaciones7. Se estima que el 20% de los pacientes VIH positivos contagiados con el VHB desarrollarán hepatitis crónica por este agente (5)

El VHC causa enfermedad crónica de hígado en 20% de los infectados, esto a menudo conduce a cirrosis, cáncer y falla hepática. La hepatitis C es particularmente fatal en pacientes infectados con VIH. La mayoría de los pacientes infectados con VHC, no conocen que están infectados porque el 2/3 de aquellos infectados nunca presentan síntomas. Los síntomas pueden aparecer 20-30 años después de la infección (8).

Algunos estudios han sugerido que la presencia de de infección VIH, acelera el curso de la enfermedad hepática relacionada VHC en pacientes coinfectados (VHC/VIH) (9). El carcinoma hepatocelular es también más frecuente en los coinfectados VIH/VHC y se presenta en edades más precoces que en las personas inmunocompetentes.

La evidencia histología de estos pacientes presenta índices de actividad necro- inflamatoria y de fibrosis superiores a los no infectados por el VIH. Asimismo, la velocidad de progresión de la fibrosis es superior en estos pacientes coinfectados, el cual es el factor de pronóstico más importante para el desarrollo de cirrosis (10).

Con la introducción del TARV (Terapia antirretroviral), el VIH/SIDA se ha convertido en una enfermedad crónica, cuya expectativa de sobrevida iguala casi a la población general, por lo que en la actualidad, las otras infecciones virales como VHC y VHB adquiere mucha más transcendencia en la sobrevida de las PVVS (Personas que viven con el VIH), por ser una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad.

La prevalencia de estas hepatitis en la población general no es muy elevada, como describen algunos investigadores: VHC 2,5% y VHB 1,14% (11)

Si bien el VHC y VHB es más frecuente en determinado grupo de riesgo, especialmente en los usuarios de drogas inyectables (UDIS), la otra población no escapa de la posibilidad de esta co-infección.

Los reportes internacionales hablan de que la frecuencia del VHC oscila entre 16 a 17%, el VHB de 6,4 a 14% y la asociación de VHC y VHB de 2,4 % como co-infección en las PVVS, sin embargo esta cifra es superior al 30% en los países donde el número de usuarios de drogas inyectables es elevado, como ejemplo Estados Unidos. (12-15).

La prevalencia de Hepatitis B en el Paraguay en población general según OMS de 1997 a 1980 era del 0,9% considerada de baja prevalencia (16).

En el informe anual del banco de sangre del 2003, se encontró 0,38% de seropositivos para Hepatitis B (17).

Un estudio realizado en el INCS del 2000 al 2007, refiere un prevalencia de 4,5% de Hepatitis B, pero este estudio no discrimina edad, por lo que están incluidos niños que adquirieron la infección por transmisión vertical, también se constato una prevalencia de Hepatitis C 6,6% (18).

Objetivo: Determinar la prevalencia de la infección por Hepatitis B y C en las PVVS en el laboratorio de Referencia para Personas viviendo con el virus del SIDA en el año 2011

Materiales y métodos

Estudio retrospectivo, descriptivo de corte transversal en el periodo comprendido entre 31-noviembre-2009 a 31 de mayo del 2011.

La población diana está constituida por el conjunto de PVVS que acuden al laboratorio de referencia del PRONASIDA.

Se tomo como población de estudio: todas las PVVS en quienes se realizaron serología para VHC y B en el periodo comprendido: 1-XII-2009 – 31-V-2011, en el Laboratorio de referencia de PRONASIDA.

Se incluyo a las PVVS mayores de 15 años con Western Blot reactivo que se realizaron serología para VHC y VHB en el Laboratorio de referencia del PRONASIDA.

Los resultados de la serología para HBV y HCV fueron revisados y cargados en base de datos elaborados para el efecto, para su posterior análisis.

La serología para investigar VHB y VHC, se basó en la detección de antígeno de superficie HBsAg con la técnica de MEIA (microenzimoinmunoanalisis) usando el equipo Axyms (Abbott Diagnostica).

Se estudiaron además variables de recuento de linfocitos. Los datos obtenidos se cargaron en el sistema Excel, para luego ser transportados a Epiinfo® para su posterior análisis.

Análisis estadístico:

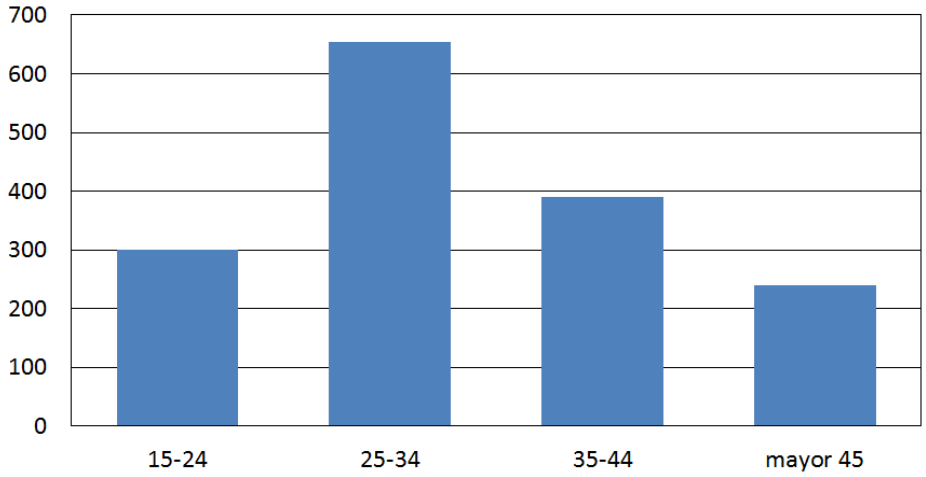
Se utilizó el Epi info ® para el análisis de datos: estadística descriptiva para frecuencia de variables y $\chi 2$ para asociación de variables dicotómicas a prevalencia de la coinfección de VIH/HBV y de VIH/HCB

Resultados

En 17 meses fueron estudiadas 1.585 PVVS para la detección de la coinfección con hepatitis B y C. De estos pacientes 981 (61,89%) eran del sexo masculino y 604 (38,11%) correspondían al sexo femenino.

El rango de edad de los pacientes en el momento del estudio fue de 15 a 74 años resultando la media de 32±10 años. La distribución de los grupos etarios se observa en el Gráfico 1.

Gráfico 1 . Distribución de la edad en la Población General

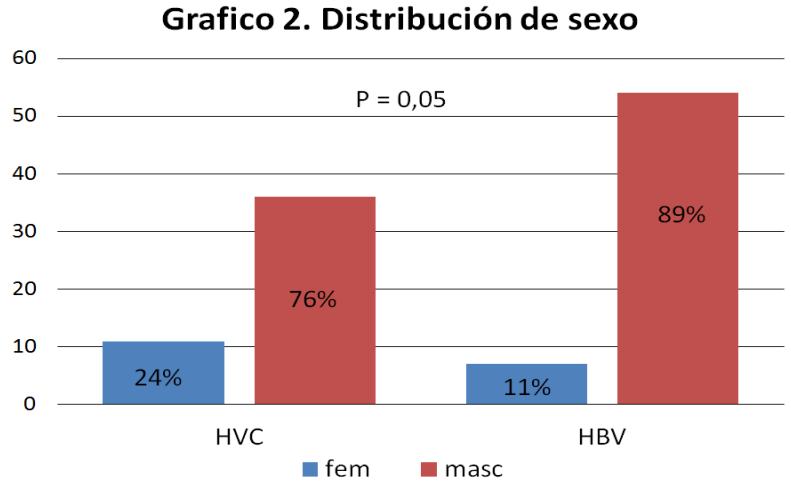


De la población estudiada, en el momento de realizarse serología para HVB y HCV 670 (42,27%) eran PVVS diagnosticadas con menos de 30 días y 914 (57,70%) contaban con diagnóstico previo de VIH/SIDA mayor a 30 días.

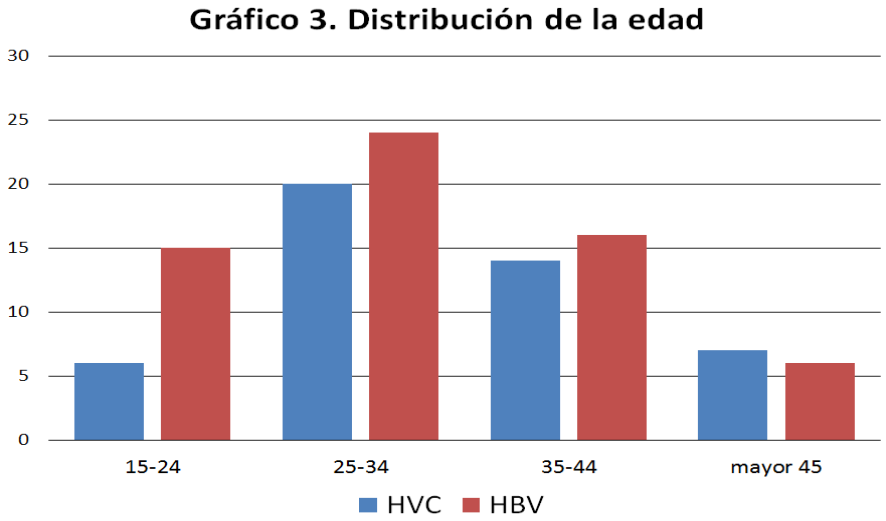
La prevalencia de la coinfección de VIH/HBV y VIH/HCB encontrada fue de 3,84% (61/1.585) y 2,96% (47/1.585) IC 95 3,05- 5,06.

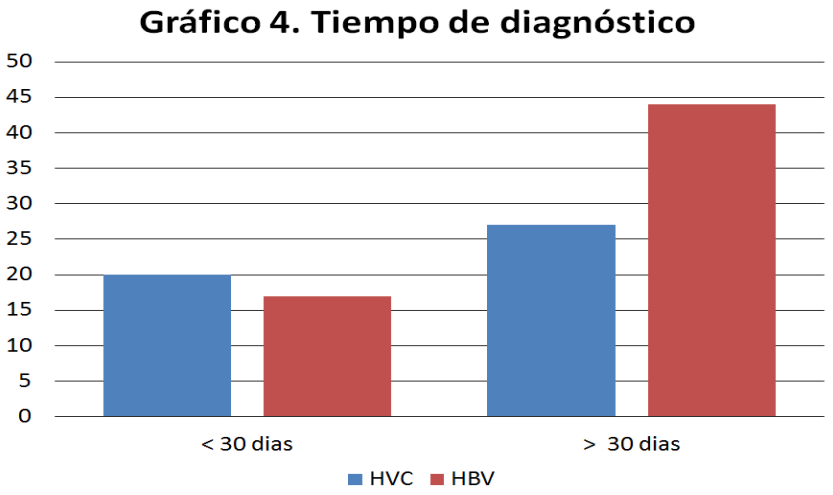
Al analizar la prevalencia según sexo se obtuvieron los siguientes datos para VIH/HBV: del total de coinfectados, 61 pts. 89% fueron del sexo masculino y 11% del sexo femenino, y para la asociación VIH/HCV la distribución de sexo fue, 76% vs 24% para el sexo masculino vs femenino respectivamente. En cuanto a la distribución de la edad en los pacientes, se puede observar una comparación entre ambos

grupos en el gráfico 2 cuyos datos resultaron ser estadísticamente significativa.

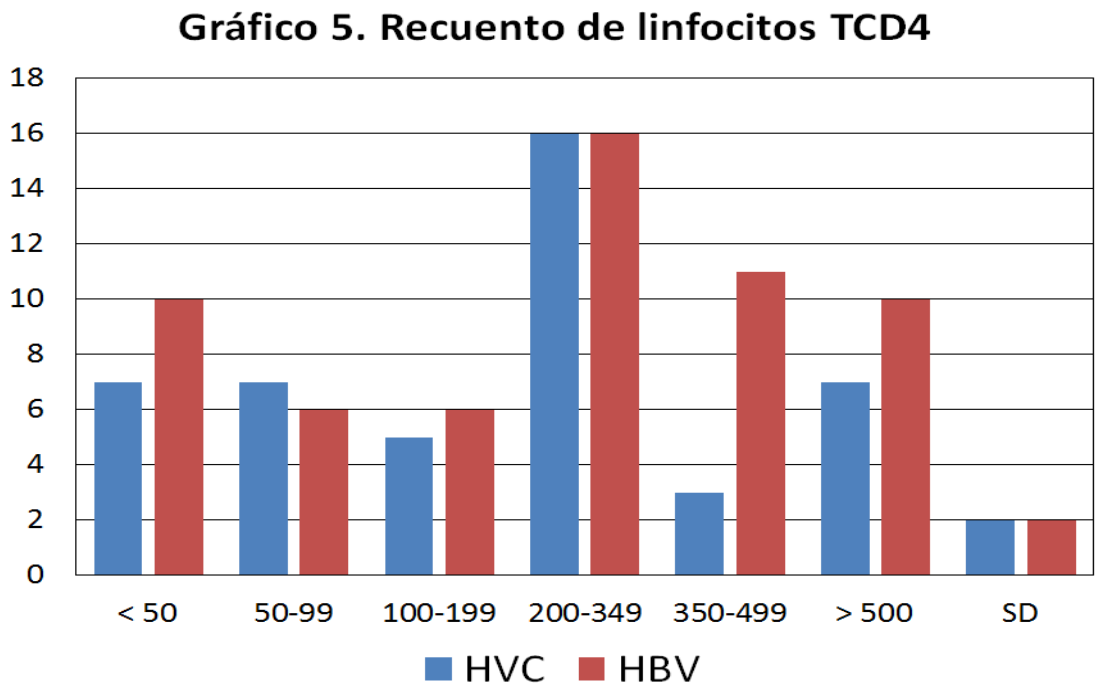


No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias según grupo de edad y asociación de HBV y HCV, Gráfico 3, y el tiempo de diagnóstico de VIH <30 días o >30 días asociado a HVC y HBV, Gráfico 4.

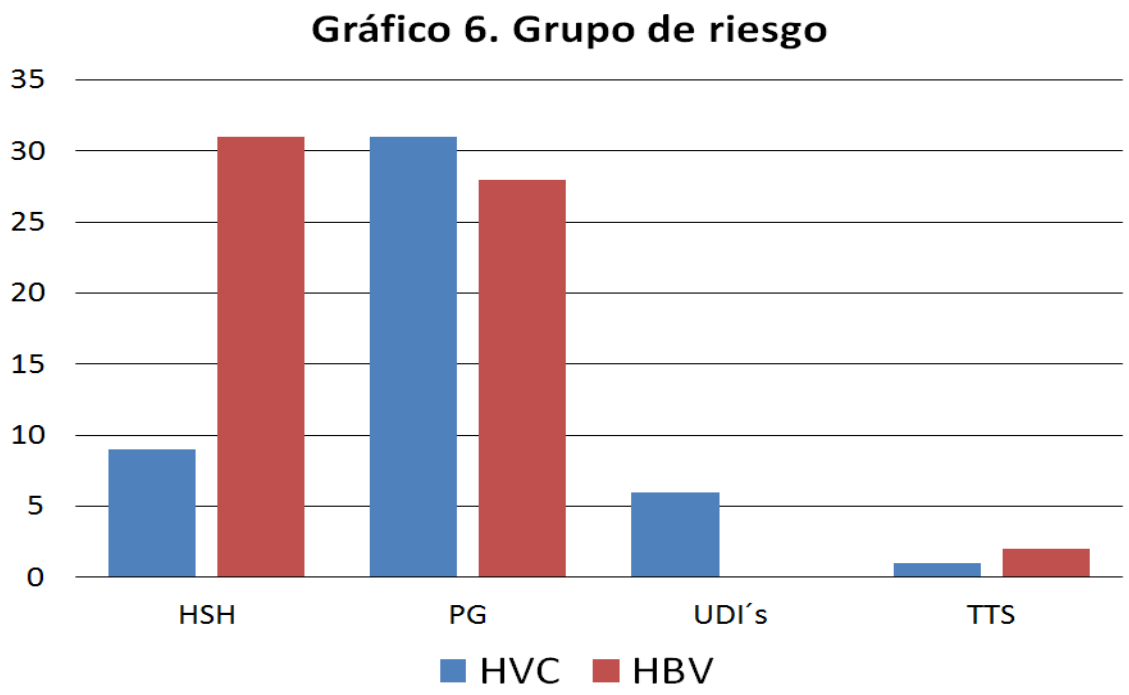




Cuando se analizó el conteo de CD4 y comparó entre ambos grupos de estudio (HBV y HCV), la mayoría de los pacientes se encontraron con niveles de CD4 de entre 200 a 349 cel/mm3; en los pacientes con HVB se encontró mayor cantidad de recuentos de CD4 que los pacientes con HVC, Gráfico 5.



El grupo de riesgo de mayor impacto fue el de HSH en los pacientes con HBV seguido de la población general (PG), en los pacientes con HCV la mayor cantidad de pacientes se encuentran en el grupo de la PG. Gráfico 6.



Discusión y Conclusión

La prevalencia de la coinfección VIH / VHC en el laboratorio de referencia del PRONASIDA fue inferior a la tasa señalada en los países europeos y EEUU como causa de su conjunto a una menor incidencia de infección por el VIH y el uso de drogas intravenosas. Sin embargo, el VIH / VHC/VHB es un problema importante de salud pública, y se deben asignar recursos para su prevención y tratamiento.

Referencias

1. Sullivan, P.S, Hanso, N. et. al. Effect of hepatitis C infection on progression of HIV disease and early response to initial antiretroviral therapy. AIDS 20: 1171- 9-2006.
2. Alfonso,A, Corcho,A y col. Co-infección VIH hepatitis B y C..Revista Cubana. Med. Trop. V.60. Habana –mayo 2008.
3. Bada M, Bermudes, L. Medero, P .Caracterización del la co-infección HVC en PVVS. Policlínico Universitario. Santa Clara.(Cuba) XX aniversario.
4. Carreto, Ma, Velez, Mc y Col. Seroprevalencia de VHB , VHC Y VIH en donadores de sangre. Salud Pública, Méx. V. 45.sep. 2003.
5. Perez, C.Ceron, I y Col. Co-infección por VHB, VHC, Treponema pallidum y Toxoplasma gondii en la cohorte de pacientes VIH positiva en control, en la Pontificia Universidad Católica de Chile. Rev.MED Chile: 137:641-648; 2009.
6. Idrono Cubides V- Co-infección de hepatitis C y VIH, actualización basada en evidencia. http//www.encolombia.com/medicina/gastroenterología
7. Hershowrc, O`Driscoll Pt, Handelsman E y col. Co infección por el VHC y carga viral del VIH, Porcentaje de célula CD4 y progresión clínica a SIDA o muerte entre las mujeres con VIH. Estudio de transmisión vertical. Clínica Infectius Deseases. 40(6) 859-867, marzo.2005.
8. Capote C, Menendez R y col. Confección con los virus VIH y VHC y su evolución clínica inmunológica.
9. Bruix J et al. Confección VIH y VHB. Hepatology 42:1208-36,2005.
10. Rovira C, Monzon I, Almiron M .Hepatitis virales en diferentes grupos étnicos del Paraguay. Mem.Inst.Investg. Cienc. Salud v.3 n 1. Diciembre 2005.
11. Cahn P y col. Co-infecciones por HBV y HCV en pacientes HIV positivos en la “ERA HAART”: nuevos desafíos. Medicina 2007; 67: 82-91
12. Recomendaciones de Gesida / PNS / AEEH sobre Tratamiento y manejo del paciente adulto Coinfectado por VIH y virus de las hepatitis A, B Y C. Panel de expertos de Gesida, Secretaria del Plan Nacional sobre el Sida y Asociación para el estudio del Hígado. Septiembre de 2009.
13. Boletín Epidemiológico. Organización mundial de la salud. Hepatitis en las Américas. 1985. Vol. 6, Nº 5
14. Duarte T, Arce M, Sosa L. Archivo Hospital de Clínicas. Banco de Sangre, Facultad de Ciencias Médicas. Informe anual: Enero a Diciembre 2003
15. Rovira C, Picaguá E, Ferreira L, Giménez V, Carpinelli MM, Granada. Prevalencia de marcadores serológicos de hepatitis virales en una población seleccionada. Experiencia de un servicio universitario. Año 2000-2007. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, Vol 7(1). Junio 2009.
16. Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R, Jr., Phair J, Visscher B, Munoz A, et al. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). Lancet. 2002 Dec 14;360(9349):1921-6
17. Weber R, Sabin CA, Friis-Moller N, Reiss P, El-Sadr WM, Kirk O, et al. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. Arch Intern Med. 2006 Aug 14-28;166(15):1632-41.
18. Edmunds WJ, Medley GF, Nokes DJ, Hall AJ, Whittle HC. The influence of age on the development of the hepatitis B carrier state. Proc Biol Sci. 1993 Aug 23;253(1337):197-201.
19. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al.

Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. J Infect Dis. 1985 Apr;151(4):599-603.

20. Polish LB, Shapiro CN, Bauer F, Klotz P, Ginier P, Roberto RR, et al. Nosocomial transmission of hepatitis B virus associated with the use of a spring-loaded finger-stick device. N Engl J Med. 1992 Mar 12;326(11):721-5. 710. Goldstein ST, Zhou F, Hadler SC, Bell BP, Mast EE, MargolisHS. A mathematical model to estimate global hepatitis B disease burden and vaccination impact. Int J Epidemiol. 2005 Dec;34(6):1329-39.
21. Eyster ME, Alter HJ, Aledort LM, et al. Heterosexual co-transmission of hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV). Ann Intern Med 1991; 115:764–8.
22. Bierhoff E, Fischer HP, Willsch E, et al. Liver histopathology in patients with concurrent chronic hepatitis C and HIV infection. Virchows Arch 1997; 430:271–7.
23. Garcia-Samaniego J, Soriano V, Castilla J, et al. Influence of hepatitis C virus genotypes and HIV infection on histological severity of chronic hepatitis C. Hepatitis/HIV Spanish Study Group. Am J Gastroenterol 1997; 92:1130–4.

Solicitud de Sobretiros:
Dr. Isisdro Insfran
PRONASIDA
drisidroinsfran@gmail.com

Caso Clínico

Sepsis por *Staphylococcus aureus* comunitario

Sepsis by community- acquired *Staphylococcus aureus*

Dres. Juan Mallorquín, Aurelia Taboada, Gustavo Benítez. *Servicio de Infectología Adultos, IMT.*

Background: Male patient, 23 years old coming from Asuncion, professional mechanic, no known carrier of underlying disease goes to the consultation 4 days before admission with the appearance of papule on the posterior aspect of left forearm third medium can't connect with any etiology and increases in size with each passing day.
2 days before admission the lesion becomes painful and is surrounded by a erythematous and indurated approximately 3 cm in diameter, pressing it manipulates the injury forcing emergence of a continuum of about 0.5 cm in diameter which emanates purulent secretion in moderate amounts, is added to local swelling and increased diameter of the limb associated with pain and functional impotence.
Then added fever why the patient consult at his community health center where they medicate with analgesics and anti-inflammatory and who can't relate to the improvement of the picture not referred to our department.
Key words: abscess, antibiotic resistance, Staphylococcus aureus.

Introducción:

En la última década, se reportaron en los Estados Unidos, un número creciente de pacientes colonizados o infectados con cepas de *S. aureus* meticilino-resistente provenientes de la comunidad (SAMRC) (1-6) con un patrón de sensibilidad a los antibióticos diferente de los *S. aureus* de origen intrahospitalario.

Demostraron resistencia a la meticilina, sensibilidad variable a clindamicina y buena sensibilidad a trimetoprima-sulfametoxazol (1-3) ocasionando en la mayoría de los casos infecciones de piel (ej. celulitis), 10% de los casos produjeron infecciones graves (ej. neumonía necrotizante, sepsis),7 y en menos del 1% de los pacientes pueden ocasionar la muerte. (1)

En Latinoamérica se comunicaron en Uruguay los primeros casos (8); En Argentina en el 2005 se reportaron un 42% de infecciones causadas por SAMRC, (9) cifra que aumentó al 51% en 2006. (11)

Hasta fines de la década del 90 en las infecciones de pacientes debidas a SAMR adquiridas en la comunidad se podía demostrar casi siempre la existencia de una relación en la atención de cuidados de la salud. (12,13)

Los SAMRC, por lo contrario, se recuperan en su mayoría de pacientes jóvenes, previamente sanos,que no han tenido contacto previo alguno con centros de salud, en la mayoría de las series reportadas fueron infecciones de piel y parte blandas, (14) como el caso que vamos que vamos presentar.

Presentación del caso

Antecedentes de la enfermedad actual:

Paciente de 23 años de sexo masculino procedente de Asunción, Bº Santísima Trinidad, mecánico, no conocido portador de patología de base. Consulta por 4 días de historia de aparición de pápula en cara posterior del antebrazo izquierdo, tercio medio de aparición espontanea, que aumenta de tamaño con el paso de los días, tornándose dolorosa con halo eritematoso e induración de aproximadamente 3 cm de diámetro dos días antes del ingresos, y aparición de solución de continuidad de 0,5 cm de diámetro post manipulación, por donde emana secreción purulenta en moderada cantidad, agregándose tumefacción y aumento del diámetro del diámetro del miembro acompañado de dolor e impotencia funciona, más fiebre motivo por el cual acude a centro asistencial de su comunidad donde lo medican con analgésicos y antinflamatorios y ante la no mejoría del cuadro acude a nuestro servicio.

No existen antecedentes patológicos de valor.

***Palabras claves**: Absceso, resistencia a aintibióticos, SAMR.*

Examen físico

Ectoscopía

Paciente adulto joven de sexo masculino, fascie compuesta, lenguaje conservado, eutrófico, marcha conservada. Llama la atención escleróticas ictéricas y aumento del diámetro del antebrazo izquierdo. Impresiona patología aguda.

Signos vitales

Presión Arterial: 124/89,
Pulso y Frecuencia Cardiaca: 112/min,
Frecuencia Respiratoria: 26/min,
Temperatura: 38,9 ºC.

Examen por aparatos y sistemas

Ojos: esclerótica con tinte ictérico, pupilas centrales, iguales, reactivas a la luz.
Boca: lengua saburral, mucosas húmedas, no placas.
Cuello: cilíndrico, simétrico, no se ven ni se palpan tumoraciones, no ingurgitación yugular.
Tórax: conformación normal, excursiona con la respiración.
Aparato Respiratorio: taquipnea, no tiraje ni retracciones, Vibraciones Vocales y Murmullo Vesicular conservado, no rales ni sibilancias.
Aparato Cardio-vascular: pulsos periféricos palpables, taquicardia, regular, amplitud, tensión y dureza conservadas, llenado capilar menor a 2". Área Central: ictus cordi no se ve ni se palpa, ruidos cardíacos hiperfonéticos, taquicardia, regular, se ausculta soplo sistólico en foco aórtico, no galope.
Abdomen: plano, excursiona con la respiración, cicatriz umbilical normal, blando, depresible, no doloroso, no visceromegalias, sonoridad conservada, RHA+.
Piel y faneras: turgencia y elasticidad conservadas. En antebrazo izquierdo cara posterior: lesión papulosa rodeada de halo eritematoso de aproximadamente 4 cm de diámetro, indurado, doloroso, con costra hemática en el centro, sin secreciones, temperatura aumentada.
Hema-linfo-poyetico: no adenomegalias.
Osteo-artro-muscular: miembros superiores asimétricos a expensas de edema de antebrazo izquierdo.
Sistema Nervioso Central: G 15/15, no signos meníngeos ni focalización.
Semiología psiquiátrica: orientado en tiempo y espacio, humor adecuado.

Impresión diagnóstica

- Sepsis grave a punto de partida de piel y partes blandas.
- Absceso en antebrazo izquierdo (L02.4 – CIE 10)
- Sospecha de Endocarditis Infecciosa (I33.0 – CIE 10)

Evolución en sala

Se inició triple antibioticoterapia (penicilina, oxacilina, gentamicina) por la sopecha de Endocarditis, que se descarta por un Ecocardiograma sin Vegetaciones por lo que se rota a cefazolina+clindamicina en su 2º DDI, para cobertura de piel, descartándose además colección a nivel de la zona afecta.

El paciente persistió febril, ligeramente taquipnéico, taquicárdico, hasta el 4º DDI, sin mejoría clínica importante. Se recibe resultado de hemocultivo 4:4: *S. aureus* resistente a oxacilina por lo que se inicia tratamiento con vancomicina + gentamicina, que completo 10 y 5 días respectivamente. Posterior al inicio de dichos antibióticos el paciente permació afebril por 10 días con buena evolución clínica y es dado de alta con TMP-SMX (trimetropin-sulfametoxazol), en planes de completar 11 días.

Dx. De egreso:

- Sepsis grave a punto de partida de piel y partes blandas a *S. aureus* (A41.0) meticilino resistente.
- Celulitis de antebrazo derecho (L03.1).

Comentarios

S. aureus es uno de los principales patógenos implicados en estas infecciones. Las infecciones se inician cuando acontece una ruptura en la barrera cutáneo-mucosa que precipita el paso del microorganismo a los tejidos adyacentes y al torrente sanguíneo.

Las infecciones producidas por SARM tienen el mismo espectro clínico que las producidas por SASM, pero las diferencias vienen dadas por las implicaciones en el tratamiento y los mecanismos de prevención de su transmisión (15).

Las infecciones causadas por *S. aureus* meticilino resistente de la comunidad son un hallazgo frecuente en pacientes internados en nuestro centro.

Los aislamientos de *S. aureus* meticilino resistente de la comunidad, actualmente se encuentra en aumento, lo que implica un cambio en el tratamiento antibiótico para lograr una respuesta clínica favorable, como pudimos observar en este caso.

El cultivo en sangre, realizado al ingreso hospitalario de este paciente, revela la importancia del laboratorio bacteriológico en este tipo de patologías a fin de lograr retornos positivos de muestras y obtener el patrón de sensibilidad de las cepas comunitarias ya que existe en la literatura varias descripciones de infecciones producidas por estas cepas, e incluso algunos casos letales. (16-17)

En trabajos realizados por el departamento de Investigación del IMT hasta el 2010 teníamos que el porcentaje de *S. aureus* meticilino resistente de la comunidad en infección de piel y partes blandas era del 13%. (18)

Deberíamos estar alerta en nuestro centro por la aparición de estos casos, y también prestar atención en otras áreas de atención ya sea en pacientes ambulatorios por urgencias para evaluar si estos casos son esporádicos, o si por el contrario como en otros centros de atención del país estamos frente al crecimiento de un patógeno meticilino resistente en la comunidad.

En otras áreas del mundo se ha establecido que si el porcentaje de cepas aisladas en la comunidad, resistentes a la meticilina supera el 10%, se debe modificar la terapia empírica de inicio del tratamiento de estas infecciones (19).

Referencias

1. Kaplan SL, Hulten KG, González BE, et al. Three-year surveillance of community-acquired Staphylococcus aureus infections in children. Clin Infect Dis 2005; 40:1785-1791. [Links]
2. Purcell K, Fergie J. Epidemic of community-acquired me-thicillin-resistant Staphylococcus aureus infections: a 14-year study at Driscoll Children's Hospital. Arch Pediatr Adolesc Med 2005; 159:980-985.

3. Zaoutis TE, Toltzis P, Chu J, et al. Clinical and molecular epidemiology of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections among children with risk factors for healthcare-associated infection: 2001-2003.Pediatr Infect Dis J 2006; 25:343-348.
4. González BE, Martínez-Aguilar G, Hulten KG, et al. Severe staphylococcal sepsis in adolescents in the era of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Pediatrics 2005; 115:642-648.
5. Kaplan S. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in children. Semin Pediatr Infect Dis 2006; 17:113-119.
6. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus disease in three communities. N Engl J Med 2005; 352:1436-1444.
7. Sattler CA, Mason EO Jr, Kaplan SL. Prospective comparison of risk factors and demographic and clinical characteristics of community-acquired, methicillin-resistant versus methicillin-susceptible Staphylococcus aureus infection in children. Pediatr Infect Dis J 2002; 21:910-917
8. Paganini H. Infecciones por Staphylococcus aureus. En: Paganini H. Infectología Pediátrica. Buenos Aires: Ed. Científica Interamericana; 2007. Págs. 955-962
9. Galeana Villar A. Infección por Staphylococcus aureus meticilino-resistente adquirido en la comunidad. Arch Pediatr Uruguay 2003; 74:26-29.
10. Paganini H, Verdaguer V, Rodríguez AC, et al. Infecciones causadas por Staphylococcus aureus resistentes a la meticilina en niños provenientes de la comunidad. Arch Argent Pediatr 2006; 104(4):293-298.
11. Mónaco A, Della Latta P, Verdaguer V, et al. Staphylococcus aureus meticilino-resistente proveniente de la comunidad. Estudio de vigilancia en niños de Argentina. V Congreso Argentino de Infectología. 5-6 de mayo, Mar del Plata, 2007.
12. Todd J. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clin Infect Dis 41: S269-72, 2005.
13. Hiramatsu KL, y col. The emergence and evolution of methicillin-resistent Staphylococcus aureus. Trends Microbiol 9: 486-93, 2001.
14. Teglia O, Gregorini E, Notario R, Fay F, Casellas JM, Casellas JM. Staphylococcus aureus eticilino-resistente, emergente de la comunidad. Rev. Méd. Rosario 73: 76 - 81, 2007
15. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 50-5.
16. Moreno F, Crisp C, Jorgensen JH, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus as a community organism. Clin Infect Dis 1995, 21: 1308-12.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Minnesota and North Dakota, 1997-1999. Morb Mortal Wkly Rep 1999; 48(32): 707-10.
18. Sanabria G, Araya S, Apodaca S, Ayala-Paredes E, Lovera D, Arbo A. Infección de piel y partes blandas causadas por Staphylococcus aureus adquirido en la comunidad en niños hospitalizados en un centro de referencia en Paraguay: 8 años de vigilancia. *Rev. Inst. Med. Trop.* Vol 3(1)29-34
19. Ready T. Antibiotic-Resistant Staph Moves Outside Hospital. Medscape Medical News 2002. Procedente de AAP National Conference; 2002 oct 21; Boston, EEUU

Solicitud de Sobretiros:
Dr. Gustavo Benítez
investigación_docencia@imt.edu.py

Instrucciones para los autores

La Revista del **Instituto de Medicina Tropical,** de Asunción - Paraguay, acepta para su publicación trabajos referentes a la medicina y ciencias afines. La revista publica artículos originales, casos clínicos, artículos de revisión y cartas al editor, tanto en español como en inglés.
Los trabajos enviados deberán ser inéditos. El Instituto de Medicina Tropical se reserva todos los derechos de programación, impresión o reproducción (copyright) total o parcial del material que reciba, dando en todo caso el crédito correspondiente a los autores del mismo. Si el autor desea volver a publicar lo ya aparecido en la Revista del Instituto de Medicina Tropical, requiere autorización previa por escrito del editor de Revista del Instituto de Medicina Tropical.

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Presentación general

El manuscrito debe tener una portada indicando claramente el TÍTULO COMPLETO del artículo, los NOMBRES DE LOS AUTORES y sus AFILIACIONES (Nombre de la Universidad, Fundación, Instituto o Dependencia, Hospital, dirección completa de la misma y ciudad). También se debe incluir en la portada el nombre del autor a quien se deberá dirigir toda la correspondencia y su e-mail, si lo posee.
La primera página debe contener, un **resumen** del artículo, con un máximo de 200palabras, y **4 a 6 palabras clave ordenadas alfabéticamente.**
La segunda página debe contener un **Abstract** con un máximo de 200 palabras (en inglés) y 4 a 6 (**Keywords**) ordenadas alfabéticamente.
Todo el texto deberá estar escrito a doble espacio en papel tamaño carta y dejando por lo menos 2 cm de margen a los lados.
La impresión debe ser clara y el tamaño de la letra debe ser de 12 puntos (Times New Roman / Arial). La redacción del texto debe ser en voz PASIVA. Para abreviaturas, se debe utilizarla nomenclatura aprobada por la unión internacional de la respectiva disciplina.
El artículo debe comprender las siguientes secciones:

· Introducción
· Materiales y métodos (el área de estudio debe ir incluida para estudios de campo)
· Resultados
· Discusión
· Conclusiones
· Agradecimientos
· Literatura citada
· Leyenda de las figuras
· Figuras
· Tablas

Después del título del artículo debe aparecer el nombre del autor o de los autores de la siguiente forma:
a) Nombre y Apellido, (ejemplo: Juan Pérez),
b) Si el autor quiere escribir dos apellidos estos deben estar unidos por un guión (ejemplo: Juan Lozano -Torres).
Cuando se citen otros trabajos dentro del texto, se seguirá el siguiente formato: Un autor: (López, 1995) o "…en el trabajo de López (1995)…".
Dos autores: (Andrade y Ruiz, 1992). Más de dos autores: (Rivas et al., 1993).
Más de una cita: (López, 1995; Andrade y Ruiz, 1992).
La presentación de la literatura citada se hará de la siguiente manera según Normas de Vancouver.

Libros

Andrade, G.; Ruíz, J.P. y Gómez, R. Biodiversidad, conservación y uso de recursos naturales. Primera edición. CEREC - Fundación Fiedrich Ebert de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia. 1992. págs 126.

Artículos en revistas

Augsburger, C.K .Seed dispersal of the tropical tree, Platypodium elegans, and the escape of its seedlings from fungal pathogens.Journal of Ecology 1983. 71: 759-771.

Libros editados

Rivas, L.I.; Chicharro, C. y Díaz, P. Sistemas de unión parásito-célula hospedadora en Trypanosomatidae. En: Rivas, L.I. y López, M.C. (eds.). Nuevas tendencias de parasitología molecular. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España. 1993. págs. 185-216.

Tamayo, M. (Trabajos de grado) Efecto de la perturbación de los bosques fragmentados sobre el comportamiento y tamaño de una comunidad de primates en el pie de montellanero. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 1997
Gutierrez, H. Utilización del canto como característica filogenética en los cucaracheros (Troglodytidae: Aves). Tesis de Maestría. Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 1990

Notas a pie de página
Evite el uso de notas a pie de página. La mayor parte de esta información puede ser incluida en el texto principal del artículo para el beneficio de lectores, editores e impresores.

Figuras y tablas
Las figuras no deben estar incluidas dentro del texto del artículo. Cada figura debe ir en una página aparte sin la correspondiente leyenda, pero con los ejes y señaladores claros y grandes. Se deben utilizar unidades de SI (Sistema Internacional de unidades).
Si se envían fotos, éstas deben ser en blanco y negro y de tamaño media carta o carta en papel de alto contraste. Cada figura debe llenar toda una página ya sea en sentido horizontal o vertical, dependiendo de su estructura. Coloque detrás de la página donde está la figura el número correspondiente de la misma en lápiz (por ej. Figura 3). Las figuras originales se envían únicamente cuando el artículo haya sido aceptado para su publicación, mientras tanto se deben enviar fotocopias claras. Incluya en una hoja aparte la leyenda de todas las figuras del artículo. Las tablas tampoco deben ser incluidas en el texto principal del manuscrito.

ARTÍCULOS DE OPINIÓN Y REVISIONES DE LIBROS

La revista acepta artículos de opinión sobre cualquier tema relacionado con las ciencias médicas y afines. Los artículos de opinión deben incluir portada y resumen en inglés y en español, siguiendo las mismas indicaciones que los artículos científicos.
Sin embargo, el texto debe ser continuo, sin secciones (en forma de ensayo), y no excederse en 10 páginas de longitud (sin incluir portada y hojas de resumen). Si el artículo incluye figuras o tablas, éstas se deben elaborar y anexar de la misma manera que para los artículos científicos. Lo mismo se aplica para la literatura citada, notas de pie de página y ecuaciones. Si se envíala revisión de un libro, se debe incluir en la portada una reseña bibliográfica, utilizando el formato para citar libros de la revista (véase arriba). Las revisiones de libros no deben incluir resumen, pero sí un título.
Aplique las demás normas para escribir artículos de opinión en las revisiones de libros.

ENVÍO DE LOS ARTÍCULOS

Los artículos deberán ser enviados (1 copia en papel y un formato electrónico (CD, pen drive), incluyendo fotocopias de las figuras, ilustraciones o fotografías) a la siguiente dirección:
Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Medicina Tropical
Venezuela casi Florida. Instituto de Medicina Tropical. Asunción - Paraguay.
Tel: (+595 21) 292 654 Interno 2030
Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Medicina Tropical
O por correo electrónico a la dirección de e-mail: **investigacion_docencia@imt.edu.py**
A nombre del:
Prof. Dr. Antonio Arbo Sosa, Editor de la Revista del Instituto de Medicina Tropical.
Una vez el artículo sea aceptado para su publicación, el autor debe remitir a la oficina editorial los originales de figuras y fotos, así como una versión del artículo en procesador de palabra (Word 7.0 o superior).

Proceso de revisión: La primera revisión la realiza el editor para definir si el artículo corresponde a la línea editorial y cumple con los requisitos señalados en estas instrucciones. La segunda revisión la realizan dos árbitros independientes en calidad de revisores pares. La identidad de autores y revisores es confidencial.

Instituto de Medicina Tropical
Avda. Venezuela casi Florida
Tel/Fax: (+595 21) 292 654 - 292 164
Asunción - Paraguay
www.imt.edu.py