

ARTÍCULOS ORIGINALES

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA DENGUE EN NIÑOS DE UNO A NUEVE AÑOS LUEGO DE UNA EPIDEMIA, AGUILARES, TUCUMÁN, 2009

Seroprevalence of Dengue Antibodies in One- to Nine-Year-Old Children after an Outbreak, Aguilares, Tucumán 2009

Félix A. Ramírez,¹ Romina Cuezco,¹ Elena B. Sarrouf,¹ Fernando A. Hilal,¹ Gabriela Alcaraz,¹ Raquel Núñez Mrad,¹ Alejandra Morales,² Delia Enría,² Cintia Fabbri,² Susana Caillou,³ Horacio Echenique,⁴ Isolina Flores,⁴ Rogelio Calli Flores⁴

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: El brote de dengue de 2009 constituyó el primero con casos autóctonos en Tucumán. Los departamentos de Río Chico y Capital fueron los más afectados. Hubo baja notificación de niños de uno a nueve años (2,6/1.000). Este hallazgo impulsó a conocer el real impacto del brote en la población infantil. OBJETIVO: Estimar la incidencia de dengue en niños de uno a nueve años. MÉTODOS: Se realizó un estudio transversal de seroprevalencia (IgG) en julio de 2009 en Aguilares (Departamento de Río Chico), con una muestra probabilística de niños de uno a nueve años que habían residido allí en los últimos seis meses. Los criterios de exclusión fueron: hogar inhabitado, rechazo a participar o niño con enfermedad aguda. Se utilizó una prueba de neutralización por reducción de placas. RESULTADOS: Se obtuvieron muestras de 118 niños. Hubo 18 rechazos a participar. El 24% (28/118) había presentado fiebre u otro síntoma compatible con dengue. Siete niños tuvieron un resultado de laboratorio positivo; uno de ellos mostró síntomas leves y los restantes seis no manifestaron síntomas. Ningún caso positivo había sido notificado al sistema de vigilancia. Uno había tenido contacto con un familiar con síntomas. CONCLUSIONES: En niños de uno a nueve años, la enfermedad fue en general asintomática. La incidencia durante una epidemia es mayor a la observada por el sistema de vigilancia. Estos resultados cobran importancia para el abordaje de la enfermedad en niños ante una segunda infección.

ABSTRACT. INTRODUCTION: The 2009 dengue outbreak became the first with autochthonous cases in Tucumán. The departments of Río Chico and Capital were the most affected ones. There was low incidence in one- to nine-year-old children (2.6/1000). This finding led to a study to know the real impact of the outbreak on children. OBJECTIVE: To estimate dengue incidence in one- to nine-year-old children. METHODS: A cross-sectional seroprevalence (IgG) study was carried out in July 2009 in Aguilares (Department of Río Chico), with a probability sample composed by one- to nine-year-old children who had lived there in the last six months. Exclusion criteria were: uninhabited home, refusal to participate or seriously ill child. The laboratory study consisted of a plaque reduction neutralization test. RESULTS: A total of 118 samples were obtained. There were 18 refusals to participate. 24% (28/118) of the children had a fever or other symptoms compatible with dengue. Seven children had a positive test result; one of them showed slight symptoms, while the remaining ones had no symptoms at all. None of the positive cases were reported to the vigilance system. One had contact with a family member with symptoms. CONCLUSIONS: In one- to nine-year-old children, the disease was generally asymptomatic. The incidence during an outbreak is higher than the cases reported to the vigilance system. These results become important in view of the approach necessary for children exposed to a second infection.

PALABRAS CLAVE: Estudio de seroprevalencia - Dengue - Niños - Anticuerpos IgG

KEY WORDS: Seroprevalence study - Dengue - Children - IgG antibodies

¹ Residencia en Epidemiología de Campo Aplicada a la Salud Pública (RECASP), Dirección de Epidemiología, Ministerio de Salud de Tucumán.

² Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Maiztegui", Pergamino, Pcia. de Bs. As.

³ Dirección General de Programas Integrados, Min. de Salud de Tucumán.

⁴ Dirección de Epidemiología, Ministerio de Salud de Tucumán.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO: Ministerio de Salud de la Provincia de Tucumán, Ministerio de Salud de la Nación.

FECHA DE RECEPCIÓN: 27 de abril de 2012

FECHA DE ACEPTACIÓN: 15 de febrero de 2013

CORRESPONDENCIA A: Félix Ramírez

Correo electrónico: felixalejandroramirez@hotmail.com

Rev Argent Salud Pública, 2013; 4(14):18 -22

INTRODUCCIÓN

El dengue es la principal enfermedad viral transmitida por artrópodos en el mundo. Su aparición y la de la variante hemorrágica en América Latina siguieron a la reinfestación de *Aedes aegypti* en la mayoría de los países de donde este vector había sido erradicado.¹

El virus del dengue pertenece a la familia *Flaviviridae*. Se trata de un virus ARN que cuenta con cuatro serotipos (DEN 1-4). Todos ellos se transmiten al ser humano por un mosquito del género *Aedes*, en las Américas principalmente el *Aedes aegypti*,² que es de carácter domiciliario.

Su incidencia ha crecido rápidamente en las áreas tropicales y subtropicales: pasó de infestar unos pocos países en los años 50 a más de 100 países en el 2000. La Organización Mundial de la Salud reporta 50 millones de casos de fiebre de dengue (FD) por año y alrededor de 500.000 de

fiebre de dengue hemorrágico (FDH), con una mortalidad que oscila entre el 1 y el 4,5%. El drástico incremento de la enfermedad, especialmente en los últimos 30 años, la ha convertido en un verdadero problema de salud pública, cuya expansión todavía no ha podido ser controlada. Esta tendencia se ha observado en países de Latinoamérica como Venezuela, Brasil, Paraguay, Cuba y Colombia.

La infección primaria por el virus del dengue puede presentarse de manera asintomática, como síndrome febril inespecífico o como un cuadro clínico típico de variada intensidad. La enfermedad se caracteriza por un estado febril agudo que compromete el estado general, asociado a cefalea, mialgias y leucopenia. La FD en general es autolimitada. Sin embargo, existe el riesgo de que evolucione hacia la forma grave, cuyas manifestaciones se relacionan con alteraciones de la hemostasia y un incremento de la permeabilidad vascular. Si no se instaura un manejo adecuado, esto puede llevar al paciente al choque hipovolémico y a la muerte.

En Argentina hay evidencias de circulación de otros flavivirus: encefalitis de San Luis (ESL), fiebre amarilla (FA) e Ilheus, que han sido aislados de pacientes, y Bussuquara, del que sólo se han encontrado anticuerpos. El virus del Nilo Occidental (VNO) ha sido aislado en equinos.^{3,4}

El diagnóstico laboratorial es esencial para confirmar la enfermedad y analizar la situación en el marco de la salud pública.

La infección en el hombre por un serotipo produce inmunidad de por vida contra la reinfección con ese serotipo, pero sólo protección temporal y parcial contra los otros.¹ Las partículas virales son neutralizadas a medida que comienzan a aparecer los anticuerpos específicos, y el diagnóstico se realiza mediante técnicas serológicas en muestras que posean cinco o más días de evolución. Existen varias pruebas de laboratorio para el diagnóstico de rutina. Las más difundidas son: inhibición de la hemoaglutinación (IHA), fijación del complemento (FC), neutralización en cultivos celulares (NT), ELISA de captura IgM (MAC-ELISA) y ELISA IgG. Los anticuerpos detectados por NT, ELISA IgG o IHA son de larga duración. Al interpretar resultados serológicos, debe tenerse en cuenta la reactividad cruzada entre los virus de la familia *Flaviviridae*.

Existen dos patrones de respuesta sérica a la infección aguda por dengue: la primaria se detecta en quienes no son inmunes a los flavivirus; la secundaria se observa en individuos con infección por dengue que han tenido una infección previa por un flavivirus (otro serotipo de dengue, FA, encefalitis japonesa, ESL, etc.).⁵⁻⁶ Los estudios realizados no han determinado si, además de los niveles, se ve afectada su duración temporal. Las investigaciones sobre otros flavivirus (FA y VNO) demuestran que con esos agentes pueden detectarse niveles de anticuerpos IgM más allá del año de la infección o vacunación.^{7,8} La presencia de determinantes comunes a los flavivirus dentro de la glicoproteína E viral genera el alto grado de reactividad cruzada que existe en la mayoría de las

técnicas serológicas de diagnóstico.⁹ La de neutralización es la más específica, aunque hay un cierto grado de reactividad cruzada entre los serotipos de dengue y con otros flavivirus.^{10,11} En infecciones primarias experimentales en primates no humanos y en humanos, se ha planteado que los anticuerpos neutralizantes son específicos de serotipo y que la especificidad se incrementa en el tiempo.^{12,13}

En las infecciones secundarias o secuenciales entre flavivirus en general, se detectan respuestas heterotípicas con mayor cruce serológico que en las infecciones primarias. Sin embargo, en el tiempo se incrementa la especificidad hacia el o los virus infectantes.¹⁴⁻¹⁶

Normalmente, se emplea la reacción de neutralización para minimizar las reacciones heterólogas detectadas con las otras técnicas serológicas. Los anticuerpos neutralizantes en general son de la clase IgG, por lo cual se necesita el estudio de un par serológico para el diagnóstico de una infección aguda. La técnica de neutralización emplea stocks virales de título conocido y cultivos celulares. Una variante muy utilizada es la que enfrenta diluciones del suero del paciente con una cantidad conocida de los cuatro serotipos de virus del dengue por separado. Si el suero contiene anticuerpos neutralizantes, parte de las partículas virales empleadas en la prueba resultan neutralizadas; ese porcentaje de reducción es evaluado mediante coloración vital de los cultivos celulares. La presencia de anticuerpos neutralizantes se considera la mejor evidencia de inmunidad protectora y suele ser tenida en cuenta para realizar encuestas postepidémicas y evaluar cómo impacta en la población la circulación de un determinado serotipo.

El brote de dengue de 2009 en Tucumán ocurrió dentro de una situación epidemiológica regional, con circulación local del virus en las provincias vecinas de Salta, Jujuy y Catamarca. En Tucumán se detectó el primer caso importado en febrero, y en marzo se comprobó la circulación local. La epidemia culminó a fines de mayo. Antes del brote, en años anteriores, en la provincia sólo se habían identificado casos importados. En 2009, los departamentos de Río Chico y Capital fueron los más afectados, con tasas de ataque de 9,98/1.000 y 1,06/1.000, respectivamente. En Río Chico más del 90% de los casos correspondieron a residentes de la ciudad de Aguilares. Al mismo tiempo, se observó una baja notificación en niños menores de 10 años (2,6/1.000), lo que despertó el interés acerca de la real incidencia en este grupo etario.

La ciudad de Aguilares está situada al suroeste de la provincia de Tucumán, en el departamento de Río Chico. El clima en verano es de cálido a caluroso, lluvioso y semihúmedo; en invierno, fresco y seco (subtropical con estación seca). La temperatura media es de 25°C en verano, 20°C en otoño, 13°C en invierno y 20°C en primavera, con una media anual de entre 14,3 y 25,7°C (19,2°C). Las precipitaciones oscilan en torno a los 920 mm anuales, con lluvias marcadas de noviembre a marzo y escasas de junio a septiembre. Desde el punto de vista

sanitario, Aguilares cuenta con un hospital, tres centros de atención primaria y dos sanatorios privados.

La población en 2009 era de 32.403 habitantes (16.558 mujeres y 15.845 varones). Los niños menores de 10 años representaban aproximadamente el 20% (6.000).

El objetivo general del estudio fue estimar la incidencia de dengue en niños de uno a nueve años de la localidad de Aguilares, mediante un estudio de seroprevalencia de anticuerpos IgG específicos en el período postepidémico de 2009. Además, se buscó estimar la población infantil infectada con dengue, conocer los síntomas en niños con resultado positivo, establecer las medidas preventivas implementadas en los hogares durante la epidemia y aportar información frente a futuros brotes.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de corte transversal que consistió en la toma de muestras de suero para pruebas de laboratorio.

Se realizó un muestreo polietápico, en una primera etapa se efectuó un muestreo aleatorio por conglomerado, y en una segunda etapa, otro sistemático dentro de cada conglomerado a fin de seleccionar niños de la edad requerida de la ciudad de Aguilares, que compartían condiciones medioambientales similares y estaban expuestos a contraer dengue durante 2009.

Se enumeraron las 559 manzanas de la ciudad en un mapa, y se efectuó su selección aleatoria. Se tomaron las cinco primeras casas (de la primera manzana) a partir de la esquina noroeste y en el sentido de las agujas del reloj, y así sucesivamente hasta completar el tamaño muestral.

En cada casa se tomó la muestra de sangre a un solo niño. Cuando había más de uno que cumplía los criterios, se seleccionaba a aquel cuyo cumpleaños estaba más próximo a la fecha de toma de la muestra.

Para una población de 6.000 niños, considerando una prevalencia del 5% (dado que de los casos notificados durante la epidemia, un 5% habían sido niños menores de 10 años), una semi amplitud del IC del 4% con una confianza del 95%. Para el cálculo, se utilizó el *software* Epi-Info 2000, y se calculó una muestra de 112 niños. Habida cuenta de la disponibilidad de recursos y las posibles pérdidas, se precisó una muestra final de 136 niños.

Los criterios de inclusión comprendieron: niños de uno a nueve años y 11 meses cumplidos residentes en la ciudad de Aguilares en los seis meses anteriores a la fecha del estudio, independientemente de si habían referido contacto, sospecha o diagnóstico previo de dengue, cuyos padres o tutores aceptaran su participación en el estudio mediante la firma del consentimiento.

Los criterios de exclusión fueron: hogar inhabitado, rechazo a participar en el estudio o presencia en el niño de alguna enfermedad aguda que impida la extracción de sangre.

La encuesta serológica se realizó durante el mes de julio de 2009 en los hogares donde vivían los niños.

Se capacitó a todos los involucrados en el estudio

para la toma de muestras, la selección de viviendas y la encuesta a los responsables de los niños.

Se realizó una extracción de 5 ml de sangre por venopunción de brazo. Se separó el suero de forma inmediata mediante centrifugación y posterior refrigeración de las muestras hasta su llegada al laboratorio, donde fueron analizadas.

Para el análisis de laboratorio, se empleó la prueba de neutralización por reducción de placas (PNRP) debido a que su sensibilidad y especificidad resultan adecuadas para el uso poblacional y que es una técnica validada. Las muestras se procesaron en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas (INEVH) "Dr. Julio I. Maiztegui", localizado en Pergamino, Provincia de Buenos Aires. Se estudiaron diluciones 1/10 de las muestras de suero, que se analizaron por duplicado frente a la cepa prototipo Hawaii de DEN-1. Las muestras positivas para DEN-1 fueron analizadas para los virus ESL, VNO y FA por PNRT a fin de descartar cruces serológicos.

La presencia de un resultado positivo o negativo fue determinada por la PNRP.

Al tomar las muestras de suero, se recogieron datos sobre el niño y el entorno familiar mediante una encuesta semiestructurada dirigida al adulto responsable. La encuesta se realizó en una sola oportunidad. A través de ella, se buscó recabar datos retrospectivos sobre la enfermedad en caso de haber existido síntomas, sin desconocer que la información podía estar sesgada por la memoria. En este caso, la serología positiva se consideró como indicador de contacto con el virus en el pasado.

La información recogida fue volcada en una base de datos, que permitió describir las principales variables y construir tablas y gráficos. Se calcularon proporciones con sus respectivos IC. Para el análisis de la información, se utilizó el software R versión 2.9.2.¹⁶

Para garantizar los aspectos éticos de la investigación, el protocolo fue aprobado por el comité de ética del INEVH. Todos los padres o tutores que aceptaron la participación del niño en el estudio recibieron una explicación apropiada y firmaron un consentimiento.

RESULTADOS

Se obtuvieron muestras para laboratorio de 118 niños, con una mediana de edad de 5 años, Percentilo (Pc)₂₅₋₇₅ (3; 7). El 51% de los niños eran varones. Hubo 18 rechazos a participar del estudio, con distintos motivos.

El 24% (28/118; IC 95%: 16,4-32,4) de los niños estudiados presentó fiebre o algún otro síntoma de dengue (mialgia, cefalea, artralgia, erupción, náusea o vómito). De ellos, el 82% (23/28; IC 95%: 63,1-93,9) realizó la consulta médica. El 96% (27/28; IC 95%: 81,7-99,9) de los niños con algún síntoma fue descartado por laboratorio. Dio resultado positivo para dengue por PNRP el 5,93% (7/118; IC 95%: 2,4-11,8). La edad de los niños positivos fue de entre tres y nueve años, y no se observó una diferencia significativa por sexo (tres mujeres y cuatro

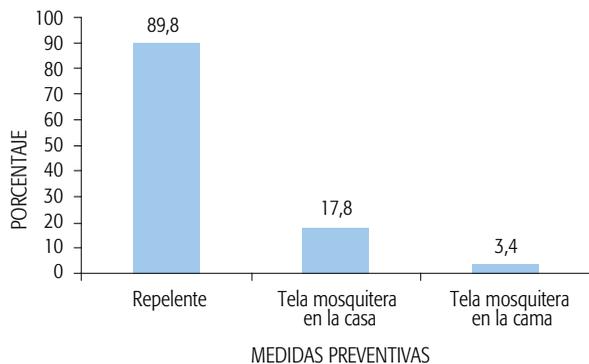
varones). De este grupo, un niño de nueve años había presentado síntomas leves (fiebre, mialgia y erupción), lo que motivó una consulta con diagnóstico de alergia. El resto no presentó síntomas. Por lo tanto, durante la epidemia ninguno de los siete casos había sido notificado al sistema de vigilancia. Tampoco tenían antecedentes de viaje a alguna provincia o país con circulación de dengue.

De acuerdo con lo registrado, uno de los niños positivos tuvo contacto con un familiar enfermo, que sí fue notificado al sistema de vigilancia.

Durante la epidemia, 28 casos en niños de la ciudad de Aguilares habían sido notificados al sistema de vigilancia epidemiológica de la provincia (3 de ellos con confirmación por nexo epidemiológico; los 25 restantes, clasificados como sintomáticos con sospecha de la enfermedad, ya que no se realizaron estudios de laboratorio).

Las medidas preventivas más utilizadas por las familias de los niños fueron repelente (89,8%) y tela mosquitera en la casa (17,8%). Un porcentaje menor utilizó tela mosquitera en la cama (3,4%) (ver Gráfico 1). Los repelentes fueron empleados en promedio por 12 semanas (3 meses), con un rango que osciló entre 1 y 24 semanas. La frecuencia de uso fue en promedio de 3 veces al día, con un rango de entre 1 y 10 veces (ver Tabla 1).

GRÁFICO 1. Medidas preventivas en hogares de niños de uno a nueve años, Aguilares 2009 (n=118).



Fuente: Elaboración propia.

TABLA 1. Medidas preventivas utilizadas en niños positivos para serología IgG de dengue, Aguilares 2009 (n=7).

| Sexo | Edad en años | Tela mosquitera (casa) | Tela mosquitera (cama) | Repelente | Tiempo de uso de repelente en semanas | Frecuencia de uso de repelente por día |
|-----------|--------------|------------------------|------------------------|-----------|---------------------------------------|--|
| Masculino | 9 | No | No | Sí | 12 | 2 |
| Masculino | 3 | No | No | Sí | 1 | 1 |
| Masculino | 6 | No | No | Sí | 12 | 3 |
| Femenino | 4 | Sí | No | Sí | 20 | 3 |
| Femenino | 4 | No | No | Sí | 12 | 5 |
| Masculino | 9 | No | No | Sí | 8 | 10 |
| Femenino | 9 | No | No | Sí | 12 | 2 |

Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

Dado que no se encontraron antecedentes de viajes, los casos positivos fueron considerados como infectados autóctonos. El estudio mostró una incidencia de dengue en niños del 6% (aproximadamente 360/6.000), cercana a lo estimado (5%). De acuerdo con los resultados, la mayoría no habría presentado síntomas que hubiesen motivado la consulta médica; lo que coincide con la bibliografía.¹⁷⁻²⁰

Es importante observar el significado epidemiológico de esta incidencia, de cara a una segunda exposición de estos niños a otro serotipo de virus del dengue. Cabe también destacar la amplia dispersión geográfica de los casos hallados en el presente estudio en la ciudad de Aguilares.

Por otro lado, entre los niños que presentaron síntomas de dengue, la mayoría (96%) probablemente no hayan sido casos. No obstante, hay que considerar las limitaciones del estudio por el sesgo del recuerdo de los entrevistados; sobre esta base, la sintomatología clínica carecería de la especificidad esperada para tenerse en cuenta en las estrategias de vigilancia.

El hallazgo de casos positivos en niños cuyos padres o responsables utilizaron repelentes podría indicar un mal uso, una aplicación tardía o una discontinuación en el empleo.

Al igual que en todos los estudios transversales, los resultados de la presente investigación podrían estar limitados por aspectos inherentes al diseño. Uno de los problemas más importantes es la ambigüedad temporal que surge al medir la relación entre el inicio de una exposición y el momento en que aparece su efecto. En este caso, los riesgos vinculados con el conocimiento de la enfermedad y las medidas de protección utilizadas están sujetos al supuesto de que la población cambió su actitud tras recibir información sobre la enfermedad: así, habría eliminado criaderos y evitado las picaduras de insectos. Asimismo, se asume que las medidas de protección (como los mosquiteros e insecticidas) se aplicaron correctamente.

En niños de uno a nueve años, la enfermedad fue en general asintomática. La incidencia durante una epidemia es mayor a la detectada por el sistema de vigilancia. Estos resultados cobran importancia para el abordaje de la enfermedad en niños ante una segunda infección.

RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

El presente estudio puede servir para:

- Conocer la incidencia real de dengue en niños mediante serología en el periodo posepidémico 2009
- Considerar la importancia de una segunda infección en niños que cursaron una epidemia de dengue sin haber presentado la sintomatología clásica, lo que exigiría hacer un seguimiento estrecho.
- Proporcionar capacitación y mejorar el uso de las medidas de prevención y protección (telas mosquiteras, repelente, etc.).
- Realizar estudios de seroprevalencia después de otras epidemias para evaluar la incidencia real de la enfermedad en la población.
- Considerar que los niños infectados en este grupo etario

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guía para su prevención y control. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. Publicación Científica N° 548, 1995.
- ² Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(3):480-96.
- ³ Morales M, Barrandeguy M, Fabbri C, García J, Vissani A, Trono K, et al. West Nile Virus Isolation from Equines in Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:1559-61.
- ⁴ Aviles G, et al. Respuestas serológicas secundarias en la epidemia de dengue de 1998 en Salta, Argentina, donde co-circulan otros flavivirus. *Medicina (Buenos Aires)*. 2001;61:129-136.
- ⁵ Martínez Torres E. Dengue y dengue hemorrágico. Ed. Universidad Nacional de Quilmes; 1998.
- ⁶ Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, et al. An Enzyme-Linked Immunoassay to Characterize Dengue Infections Where Dengue and Japanese Encephalitis Co-Circulate. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1989;40:418-427.
- ⁷ Roehrig JT, Nash D, Maldin B, Labowitz A, Martin DA, Lanciotti RS, et al. Persistence of Virus-Reactive Serum Immunoglobulin M Antibody in Confirmed West Nile Virus Encephalitis Cases. *Emerging Infectious Diseases*. 2003;9(3):376-379.
- ⁸ Monath TP. Yellow Fever. En: Monath TP (ed.). *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc.; 1989.
- ⁹ Henchal EA, Gentry MK, McCown JM, Brandt WE. Dengue Virus Specific and Flavivirus Group Determinants Identified with Monoclonal Antibodies by Indirect Immunofluorescence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1982;31:830-836.
- ¹⁰ Calisher CH, Karabatsos N, Darlymple JM, et al. Antigenic Relationships among Flaviviruses as Determined by Cross-Neutralization Tests with Polyclonal Antisera. *J Gen Virol*. 1989;70:37-43.

pueden ser asintomáticos, lo que exige formular recomendaciones más insistentes a los padres o encargados de adoptar medidas preventivas.

AGRADECIMIENTOS

A los agentes sanitarios del Área Operativa Aguilares que colaboraron con esta investigación, a la Municipalidad de Aguilares, a la Dra Silvina Mazzuco (subdirectora del Hospital de Aguilares), a la Dra. Abraham (directora del Hospital de Aguilares), a la Dra. Ana Cadiñanos (directora de Área Programática Sur), al equipo del Laboratorio de Virología del Hospital Avellaneda y a la Dra. Evelina Chapman.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

No hubo conflicto de intereses durante la realización del estudio.

¹¹ Russel PK, Nisalak A, Sukhavachana P, Vivona S. A Plaque Reduction Test for Dengue Virus Neutralizing Antibodies. *J Immunol*. 1967;99:291-296.

¹² Scherer WF, Russell PK, Rosen L, Casals J, Dickerman RW. Experimental Infection of Chimpanzees with Dengue Viruses. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1978;27:590-599.

¹³ Scott RM, Nimmannitya S, Bancroft WH, Mansuwan P. Shock Syndrome in Primary Dengue Infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1976;25:866-874.

¹⁴ Fukunaga T, Okuno Y, Tadano M, Fukai K. A Retrospective Serological Study of Japanese Who Contracted Dengue Fever in Thailand. *Biken Journal*. 1983;26:67-74.

¹⁵ Kuno G, Gubler DJ, Oliver A. Use of 'Original Antigenic Sin' Theory to Determine the Serotypes of Previous Dengue Infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine*. 1993;87:103-105.

¹⁶ R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Development Core Team. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria; 2009. Disponible en: <http://www.r-project.org>. Último acceso: 16 de abril de 2012.

¹⁷ Graham RR, Juffrie M, Tan R, Hayes CG, Laksono I, Ma Roef C, et al. A Prospective Seroepidemiologic Study on Dengue in Children Four to Nine Years of Age in Yogyakarta, Indonesia. *Studies in 1995-1996*. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;61:412-9.

¹⁸ Burke DS. A Prospective Study of Dengue Infection in Bangkok. *Am J Trop Med Hyg*. 1998;38:172-80.

¹⁹ Martínez TE. Dengue. En: Gonzales SN, *Infectología Clínica Pediátrica*. Séptima edición. Mc Graw Hill Interamericana editores SA; 2004:535-44.

²⁰ Iturrino-Monge R, Avila-Agüero ML, Avila-Agüero CR, Moya-Moya T, Cañas-Coto A, Camacho-Badilla K, et al. Seroprevalence of Dengue Virus Antibodies in Asymptomatic Costa Rican Children, 2002-2003: A Pilot Study. *Rev Panam Salud Pública*. 2006;20(1):39-43.