



**ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE DENGUE, ZIKA Y CHIKUNGUNYA EN  
DONANTES PROVENIENTES DE LA RED NACIONAL DE BANCOS DE SANGRE DE  
LA CRUZ ROJA COLOMBIANA**

**BRIAN ALEJANDRO CÁCERES MUNAR**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA**

**TRABAJO DE GRADO**

**BOGOTA D.C.**

**2020**

**ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE DENGUE, ZIKA Y CHIKUNGUNYA EN  
DONANTES PROVENIENTES DE LA RED NACIONAL DE BANCOS DE SANGRE DE  
LA CRUZ ROJA COLOMBIANA**

**Brian Alejandro Cáceres Munar**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE PREGRADO DE  
BACTERIÓLOGO Y LABORATORISTA CLÍNICO**

**Asesor interno**

**Mauricio Humberto Rodríguez Panduro, MSc.**

**Asesor externo**

**Félix Giovanni Delgado Tiria, PhD.**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA**

**TRABAJO DE GRADO**

**BOGOTA D.C.**

**2020**

**ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE DENGUE, ZIKA Y CHIKUNGUNYA EN  
DONANTES PROVENIENTES DE LA RED NACIONAL DE BANCOS DE SANGRE DE  
LA CRUZ ROJA COLOMBIANA**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA**

**TRABAJO DE GRADO**

## **Agradecimientos**

A mi familia, en especial a mi abuela materna, por ser un apoyo incondicional durante estos 5 años de formación profesional.

Al Instituto de Virología de la Universidad del Bosque y sus integrantes, en especial el Dr Felix Delgado, el Dr Jaime Castellanos, la Dra Myriam Velandia y la Dra Eliana Clavo por su paciencia e incondicional apoyo en mi formación como futuro virólogo de este país.

A la universidad Colegio Mayor de Cundinamarca y todos sus docentes por brindarme los conocimientos para ser un integro y excelente profesional.

## **Tabla de Contenido**

Introducción .....	1
1. Planteamiento del problema.....	4
2. Objetivos .....	6
2.1 Objetivo general:.....	6
2.2 Objetivos específicos: .....	6
3. Antecedentes .....	7
4. Marco teórico .....	13
4.1 Generalidades virus dengue, Zika y chikungunya .....	13
4.2 Epidemiología de la infección por virus dengue, Zika y chikungunya.....	17
4.3 Virus dengue, Zika y chikungunya como posibles virus transmitidos por transfusión (TTV) .....	18
5. Metodología .....	21
6. Resultados .....	25
7. Discusión.....	40
8. Conclusiones .....	45
9. Recomendaciones .....	47
10. Referencias.....	49
11. Anexos .....	63

## Lista de Figuras

figura 1. Estructuras de viriones maduros de DENV, ZIKV Y CHIKV tomadas a 3,5 Å, 3,8 Å y 2,8 Å respectivamente .....	16
Figura 2. Representación del ciclo de transmisión selvático y urbano de los arbovirus .....	18
Figura 3. Representación clásica de la cinética de una infección por Flavivirus .....	20
Figura 4. . Prevalencia de donantes de sangre infectados (DSI) con alguno de los tres arbovirus en cada ciudad.....	27
Figura 5. Prevalencia de DSI con DENV, ZIKV o CHIKV (monoinfecciones) en las seis ciudades del estudio .....	28
Figura 6. Prevalencia de DSC en las seis ciudades del estudio .....	29
Figura 7. Prevalencia de los cuatro serotipos de DENV (DENV-1-DENV-4) en DSI con DENV de todas las ciudades.....	30
Figura 8. Prevalencia de DSI por ciudad en los que se encontró una coinfección entre dos o más virus.....	32
Figura 9. Porcentaje de DSIE que presentaron cada uno de los síntomas incluidos en la encuesta. ....	34
Figura 10. Respuesta de DSIE a la pregunta de si habían sido diagnosticados con DENV alguna vez.....	36
Figura 11. Grupos sanguíneo y RhD encontrados en los DSIE.....	37
Figura 12. hemocomponentes obtenidos a partir de los DSIE.....	37

Figura 13. Comparación de la frecuencia de DSI con DENV-1, DENV-2, ZIKV Y CHIKV en las seis ciudades del estudio ..... 39

### **Lista de Tablas**

Tabla 1. Descripción de cebadores Externos e Internos usados en la detección de DENV, CHIKV y ZIKV mediante PCR semi anidada..... 16

Tabla 2. Numero de muestras Analizadas y Positivas para algún arbovirus por ciudad.....26

Tabla 3. Listado de los virus coinfectantes encontrados en cada ciudad..... 33

## RESUMEN

A lo largo de la historia de las epidemias causadas por virus transmitidos por vectores en el mundo, especialmente de aquellas ocurridas en países del trópico, Colombia siempre ha sido un desafortunado protagonista. Virus como el dengue, chikungunya y más recientemente el Zika, han generado grandes epidemias que han tenido gran impacto en la salud pública. En la actualidad es claro que el principal mecanismo de transmisión de estos arbovirus es mediante la picadura de mosquitos hembra del género *Aedes* infectado. No obstante, considerando también que altas viremias de estos virus pueden estar en la sangre de una persona o donante de sangre en un plazo aproximado de 7 días inclusive si es asintomática, el riesgo de infección por algún arbovirus que eventualmente sea transmitido por transfusión podría considerarse. A pesar de esto son pocos los estudios que han medido directamente la prevalencia de arbovirus, según lo determinado por la presencia de ARN viral en bancos de sangre de países endémicos. Con base en lo anterior, el presente estudio tuvo por objetivo estimar la prevalencia de infecciones por DENV, ZIKV y CHIKV en donantes de sangre de áreas endémicas y no endémicas que asisten a los bancos de sangre de la Cruz Roja Colombiana. Para esto, se analizaron 474 muestras de donantes recolectadas durante los meses de noviembre de 2019 y febrero de 2020. Se utilizó un enfoque de RT-PCR semi anidada para la detección molecular de estos arbovirus, adicionalmente, 3 semanas después de la donación, se encuestaron a los donantes en los que se identificó virus para observar si habían presentado algún síntoma compatible con una

arbovirosis; finalmente, las proporciones entre donantes infectados de sangre de áreas endémicas y no endémicas se compararon con una prueba de Chi-cuadrado. Como resultado de este trabajo, se encontró RNA viral de cualquiera de los tres arbovirus en el 25% de los donantes de sangre, la ciudad en la que más se detectaron donantes infectados fue Cartagena con una prevalencia total del 76% y los arbovirus más prevalentes en todas las ciudades fueron dengue 2 y dengue 1. Sorprendentemente se identificaron infecciones simultáneas con dos o más arbovirus en 20 de 113 donantes infectados. Curiosamente, la frecuencia global de infección por arbovirus en donantes de sangre de áreas no endémicas fue del 16.3% (IC 95% 11.8-21.8) y para los de áreas endémicas fue de 29.7% (IC 95% 24.2-35.6) ( $p = 0.001$ ); esto se explicó por las diferencias entre DENV1 (2.9% IC 1.2-5.8; 8.9% IC 5.9-13.0%) y CHIKV (1.9% IC 0.7-4.5%; 12.2% IC 8.6-16.7%), mientras que las otras frecuencias fueron similares. En conclusión, por primera vez en Colombia, se detectó una alta prevalencia de donantes de bancos de sangre infectados con DENV, ZIKV o CHIKV. La detección de estos tres arbovirus durante el brote de dengue más reciente, incluso en donantes de áreas no endémicas, revela la urgente necesidad de implementar políticas públicas en países endémicos para el control de todos estos virus en las donaciones de sangre.

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones arbovirales (trasmitidas por artrópodos) causadas por virus dengue (DENV), Zika (ZIKV) y Chikungunya (CHIKV) han constituido un problema de salud pública a lo largo de la historia, en especial en países ubicados en el trópico. Por ejemplo, en el caso de Colombia, la infección por DENV se considera la enfermedad viral transmitida por vectores con mayor incidencia con un total de 1'401.240 casos registrados en un periodo de 26 años (1990-2016)(1). En el año 2018 se reportaron un total de 21.242 casos de fiebre de dengue (FD) y 23.057 de dengue con signos de alarma, mientras que los casos de dengue grave fueron 526, para un total de 44.825 casos(2) para el caso de ZIKV, se informaron 857 casos de los cuales solo 6 fueron confirmados por laboratorio(3), mientras que para CHIKV, 663 casos fueron reportados con 157 casos confirmados por laboratorio(4). Globalmente, cálculos epidemiológicos realizados por Bhatt., *et al*(5), estiman que en el mundo ocurren 390 millones de casos cada año (entre 284 y 528 millones), de los cuales aproximadamente entre 500.000 y 1'000.000 son diagnosticados como dengue grave y 20.000 de ellos, principalmente niños, terminan como casos fatales. Sin embargo, estas cifras pueden estar subestimadas debido a deficiencias en los sistemas de salud al momento de identificar y reportar estos eventos (en especial en países que se encuentran en vía de desarrollo) y, a que una infección por estos arbovirus puede en muchos casos resultar asintomática; se estima que el porcentaje de infecciones asintomáticas es de 50 % para DENV(6), 76 % para ZIKV(7) y de 3 a 28 % para CHIKV(8). Ahora bien, el desarrollo de la severidad en estas infecciones está relacionado principalmente con infecciones secundarias heterotípicas ( para el caso de DENV una infección secuencial con serotipos distintos) mediadas

por fenómenos como la amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (ADE, por sus siglas en inglés) que ha sido descrito como el mayor factor de riesgo para el desarrollo de dengue grave(9); para el caso de ZIKV, estudios *in vitro* demuestran que también se puede presentar una infección potenciada por anticuerpos de DENV preexistentes(10) y para CHIKV la presencia de anticuerpos sub neutralizantes contra el mismo virus podría llevar también a una infección amplificada(11). Esto es relevante en tanto existen países hiperendémicos como Colombia en los cuales circulan los 4 serotipos de DENV acompañados de ZIKV y CHIKV que pueden originar coinfecciones y/o infecciones secuenciales dando como resultado variantes en la patogénesis e inmunopatogenesis de estas enfermedades; de aquí que diversos grupos de investigación se hayan dado a la tarea de investigar los resultados de estos eventos relacionados con estos virus, no solo para encontrar posibles explicaciones a complicaciones clínicas ya observadas, sino también con el propósito de obtener información para el desarrollo de nuevos candidatos a vacuna.

A pesar de que en Colombia no existen casos reportados de transmisión de arbovirus por transfusión sanguínea, ya sea porque esta vía no genera una alta tasa de infección aparente o porque las instituciones de salud no han puesto en marcha un programa de seguimiento para su detección y control, ya se encuentran casos de infección por DENV, ZIKV, mientras que para CHIKV, existe un riesgo constante de transmisión en países endémicos(12–15). Este mecanismo de transmisión no vectorial de estos arbovirus podría estar asociado con la ausencia de síntomas durante el periodo de incubación de la infección; en este caso, un individuo podría donar sangre desconociendo que se encuentra infectado por este arbovirus(16). En consecuencia, una persona infectada por transfusión que previamente se haya infectado con otro serotipo de DENV, podría estar en alto riesgo de desarrollar dengue grave por una infección potenciada. Por tal razón,

resulta muy importante empezar a recopilar información útil que sirva de sustento para el desarrollo de políticas de salud pública que en un futuro cercano puedan empezar a implementarse. El análisis sobre la prevalencia de infección con DENV, ZIKV y CHIKV en donantes de sangre en Colombia no solo aportará información para mejorar las políticas de control de calidad de los derivados sanguíneos aptos para ser transfundidos, sino que definirá un punto de partida para el estudio y seguimiento clínico de los posibles casos de infección a través de esta vía en nuestro país. Además, los datos recopilados en este estudio podrán ser de utilidad para estimar la prevalencia de infección con estos arbovirus en la población general.

## **Análisis de la Prevalencia de dengue, Zika y Chikungunya en Donantes Provenientes de la Red Nacional de Bancos de Sangre de la Cruz Roja Colombiana**

### **1. Planteamiento del problema**

La transmisión de virus a través de vectores es un problema de salud pública que afecta a la población de muchos países en el mundo, especialmente a aquella socialmente más vulnerable que tiene acceso limitado a los servicios de salud. En Colombia, la circulación de arbovirus como DENV, CHIKV y ZIKV ha causado cientos de miles de infecciones a lo largo de todo el territorio, provocando problemas sanitarios importantes y muy variados. A pesar de que se tiene completamente claro que el principal modo de transmisión de estos virus es a través de la picadura de mosquitos del género *Aedes*, se han identificado otros mecanismos por los cuales estos virus pueden llegar a ser transmitidos a los humanos. Entre los mejor documentados se tienen: la transmisión vertical, a través del contacto sexual y la transfusión sanguínea. Este último, ha sido claramente documentado en casos específicos de infecciones con DENV, CHIKV o ZIKV, y recientemente ha cobrado mucha importancia debido al reporte de casos bien documentados de infecciones con ZIKV a través de esta vía, durante la más reciente epidemia en América Latina. Tanta fue la preocupación a nivel internacional, que la Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con el Centro de Control de Enfermedades de los EE. UU (CDC, por sus siglas en inglés), lanzaron campañas promoviendo una serie de medidas que debían tomarse para garantizar la seguridad del suministro de sangre en los países con casos de infección por ZIKV. Dichas medidas fueron bien aplicadas en Colombia durante la fase epidémica de este virus, sin embargo, ahora que estamos en la fase endémica, su aplicación representa un reto más grande y muy seguramente necesitarán ser replanteadas. En este sentido, para adoptar nuevas medidas que

resulten realmente efectivas, se hace necesario recopilar y analizar toda la información disponible alrededor de esta problemática, que, para este caso específico, resulta ser muy escasa o incluso casi nula en Colombia. Así pues, encontrar una respuesta a la pregunta de investigación sobre ¿Cuál es la prevalencia de virus dengue, Zika y chikungunya en donantes de sangre en Colombia? resulta de gran importancia epidemiológica para la toma de decisiones sobre el control de las enfermedades causadas por estos virus.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo general:**

Estimar la prevalencia de la infección por virus dengue, Zika y/o chikungunya en donantes de sangre en Colombia

### **2.2 Objetivos específicos:**

- Comparar la prevalencia de la infección por virus dengue, Zika y chikungunya en donantes de sangre que provengan de zonas endémicas o no endémicas para estos virus.
- Identificar la prevalencia de infecciones sencillas o coinfecciones con virus dengue, Zika y/o chikungunya en donantes de sangre en Colombia.

### 3. Antecedentes

#### **Evidencia cronológica de transmisión de dengue, Zika y chikungunya transmitidos por transfusión**

Para el caso de DENV, el primer evento documentado de infección vía transfusión sanguínea, ocurrió en Hong Kong en 2002, en un área donde este virus no es endémico(17); el receptor fue una mujer de 76 años de edad, seronegativa, que desarrolló fiebre 2 días después de recibir una unidad de glóbulos rojos donada por un joven de 17 años quien fue diagnosticado con dengue 7 días después de la donación. Análisis serológicos y moleculares de muestras de suero del receptor, confirmaron la infección con DENV serotipo 1 (DENV1) y la seroconversión a IgM específica contra DENV, luego de la transfusión. Posteriormente en el 2007, en Singapur durante el periodo epidémico de DENV se reportó infección de DENV por trasfusión en dos de tres receptores de los componentes de una unidad que había donado un hombre asintomático de 56 años que reportó haber experimentado eventos febriles un día después de su donación; los dos receptores infectados eran de sexo masculino y presentaron manifestaciones clínicas compatibles con DENV a los dos días post transfusión, uno tenía 64 años y recibió plasma fresco congelado y presentó signos de fuga capilar, el otro receptor tenía 72 años y recibió el paquete de glóbulos rojos y no presentó signos de fuga capilar, el serotipo de la unidad de sangre se confirmó por técnicas de PCR convencional y correspondió a DENV-2 que fue el mismo detectado en los receptores utilizando la misma técnica(12). Otro caso de DENV trasmitido por transfusión ocurrió en Singapur en 2015, en el cual, un paciente quirúrgico femenino de 37 años recibió una transfusión de glóbulos rojos a los 10 días de ingreso al hospital por un episodio de sangrado

debido a hemorroides y una úlcera estercolar; a los 4 días post transfusión presentó fiebre con una disminución (un día después) del recuento de plaquetas que no respondía a la transfusión de las mismas y finalmente la infección por DENV fue confirmada por una prueba reactiva de IgM para DENV; se identificó que el donante había experimentado fiebre de dengue a los 2 días post donación, y mediante secuenciación por Sanger se identificó una homología del 100% de la cepa infectante del donador y el receptor(13). En América del Sur también se encuentran casos reportados de infección por este arbovirus vía transfusión sanguínea. Levi., *et al*(18) en un artículo publicado en el 2015, reportan que un donante habitual de plaquetas por aféresis en Brasil notificó ser diagnosticado por DENV días después de la donación; estas unidades se transfirieron a dos pacientes de los cuales solo uno desarrollo síntomas relacionados con DENV que fueron confirmados. El receptor que desarrolló la enfermedad era un hombre de 56 años que había ingresado al hospital por diagnóstico de anemia aplasia y la infección se resolvió 23 días después de la transfusión. También en Brasil, Sabino., *et al*(19) en un estudio retrospectivo realizado en 2016 con base en el análisis de muestras de donantes y receptores durante una epidemia en Brasil en 2012, identificaron que en total se transfundieron 42 unidades de sangre que eran positivas para DENV en 35 receptores; de estas, 16 unidades transfundidas al mismo número de receptores generaron una infección en el receptor, 5 unidades se consideraron como casos probables de DENV transmitido por transfusión, 1 unidad como posible caso, mientras que 10 unidades no generaron transmisión de DENV. Por último el estudio más reciente en lo que respecta a DENV transmitido por transfusión es el publicado por Karim *et al.*(20) en 2017, en el cual dos pacientes transfundidos a partir de la misma unidad de sangre desarrollan dengue, el cual es detectado por RT-PCR.

Para los dos arbovirus restantes (ZIKV y CHIKV) hasta el momento se encuentran reportadas probables infecciones y riesgo de infección por transfusión en zonas endémicas por trasfusión. Para ZIKV, estudios como los de Barjas-Castro., *et al*(15) han identificado posibles casos de ZIKV transmitido por transfusión; en este caso en particular, un estudio retrospectivo permitió identificar que una parte del concentrado de plaquetas que se transfundió a un paciente después de un trasplante de hígado provenía de un donador que había informado 3 días después de su donación que había presentado fiebre, malestar y dolores de cabeza; las muestras almacenadas de esta donación se sometieron a RT-PCR y resultaron ser positivas para ZIKV y su porcentaje de homología respecto a la cepa infectante del receptor fue del 99.8%. En el caso de CHIKV, no existe un reporte formal de casos de transmisión por transfusión sanguínea del virus y la información sobre su presencia en unidades de sangre donadas es escasa, sin embargo, dado su potencial de transmisión teórico por esta vía, ha sido considerado como un agente infeccioso de cuidado para garantizar la seguridad en el suministro de sangre(21,22) . En este sentido, una estimación del riesgo de transmisión de este virus fue realizada basada en los datos obtenidos durante la epidemia ocurrida en la provincia de Songkhla en Tailandia(23); este estudio valoró que el riesgo potencial de transmisión por la vía de transfusión sanguínea para CHIKV en receptores recibiendo componentes sanguíneos infectados, en la ausencia de medidas de control de seguridad, fue del 10.9%. Es de resaltar también que Magnus., *et al*(24) identificaron una prevalencia de ZIKV del 0.16 % en 1857 unidades de sangre en Brasil evidenciando un riesgo de transmisión de ZIKV por transfusiones sanguíneas.

Ahora bien, En 2009 la AABB, listó una serie de agentes infecciosos emergentes y los clasificó según el riesgo potencial que representaban durante una trasfusión sanguínea(22). De acuerdo con la AABB, el DENV fue clasificado en el nivel más alto de prioridad (rojo), considerándolo

como un agente infeccioso con un alto riesgo potencial de causar resultados clínicos severos durante la transfusión sanguínea. Del mismo modo, CHIKV fue también incluido en la misma lista, pero con un nivel más bajo de prioridad (naranja). A la fecha, este listado ha sido actualizado y además de DENV y CHIKV, ZIKV ha sido también incluido(21), debido al alto potencial de transmisión por esta vía que ZIKV ha demostrado tener.

Debido a lo mencionado anteriormente, en tanto estos arbovirus pueden ser transmitidos por transfusión, varios estudios se han enfocado en identificar ARN de estos virus en unidades de sangre provenientes de donantes para obtener información de la prevalencia de unidades infectadas en diversos bancos de sangre (en especial en brotes, donde el número de eventos relacionados con estos virus aumenta), sin importar si estas unidades finalmente son transfundidas o no. Cronológicamente, el primer estudio para identificar prevalencia de DENV en donantes de sangre se realizó en 2008. En este, se realizó un estudio retrospectivo para identificar la prevalencia de DENV en donantes de Honduras, Brasil y Australia, se realizaron ensayos de amplificación mediada por transcripción (TMA) e identificó que de 2994 donaciones en Honduras, 9 (0.30%) resultaron positivas, en Brasil, 3 se identificaron como positivas (0.06%) y en Australia ninguna resultó ser positiva; también es de resaltar que el serotipo de DENV se analizó mediante PCR en tiempo real (qPCR), dando como resultado la presencia de serotipos 1, 2 y 4 en Honduras y serotipos 1 y 3 en Brasil(16).

Cuatro años después, Stramer., *et al*(25) publicaron los resultados de un estudio retrospectivo que incluyó 15.350 muestras de donantes de Puerto Rico recolectadas durante el 2007. Las muestras fueron analizadas por TMA y arrojaron como resultado un total de 29 muestras positivas para ARN de DENV, es decir, una prevalencia del 0.19%. El serotipo de estas muestras se identificó por RT-PCR indicando la presencia de los serotipos 1, 2 y 3; además, en este

estudio también se realizó un seguimiento de transfusión en 3 de los receptores de estas 29 unidades infectadas y se evidenció que uno de ellos presentó fiebre después de la transfusión y desarrolló dengue hemorrágico. Otro estudio publicado en 2012 realizado en Brasil, en el que se analizaron por qPCR muestras provenientes del Centro de Hemoterapia de Ribeirão Preto durante un brote de DENV, se identificó la presencia de ARN viral en 2 de 500 muestras, es decir, una prevalencia del 0.2 %; además, mediante PCR Semi anidada se identificó el serotipo 3 en la totalidad de las unidades(25). En Arabia Saudita, un estudio transversal que incluyó 910 donantes, mostró una prevalencia de DENV del 5.5 %, y un análisis de serotipificación indicó una prevalencia del serotipo 4 que no había sido reportado antes en este país(26), por lo que sería plausible la utilidad de estos análisis para identificar los serotipos circulantes durante el periodo de tiempo en el que las muestras de donantes son recolectadas.

Los reportes de prevalencia de ZIKV en donantes de sangre son menos numerosos que los de DENV. En un estudio retrospectivo realizado por Williamson., *et al*(27), en el cual se analizaron 466.834 donaciones, 5 resultaron reactivas para ARN de ZIKV mediante ensayos de TMA incluidos en el paquete de Procleix ZIKV; interesantemente, las muestras de este estudio se recolectaron en zonas de Estados Unidos en las cuales la transmisión vectorial de ZIKV era nula, sin embargo, los donantes de las 5 muestras reactivas recientemente habían viajado a lugares endémicos de ZIKV, concluyendo con esto que se puede presentar prevalencia de este arbovirus en donantes de sangre que viven en lugares que inclusive no son endémicos para este. En las Américas, un estudio realizado por Slavov., *et al*(28), identificó una prevalencia del 2.7 % en un total de 1.393 muestras analizadas con una media de la infección equivalente a 7.714 copias / ml. Para el caso de CHIKV, un estudio prospectivo en el Caribe durante 2014, en el cual, a partir de 2.149 muestras de donantes sometidas a detección de CHIKV por técnicas de ácido nucleico

(NAT), se identificó que 4 de estas eran positivas para el virus: dos reportaron episodios febriles 12 y 24 horas después de la donación mientras que los dos restantes no reportaron síntomas relacionados con CHIKV (14). Finalmente, en un estudio retrospectivo en Brasil realizado por Slavov *et al*(29), que incluyó 887 muestras recolectadas entre 2015 y 2016 en el Servicio de Hemoterapia de Macapá y en el Centro de Sangre de Ribeirão Preto, no se encontró RNA viral de CHIKV utilizando la técnica de qPCR.

Por último, es importante resaltar que, hasta la fecha, en Colombia no se han realizado estudios para identificar la posible presencia de alguno de estos arbovirus en donantes de sangre. El presente estudio será la primera aproximación en la detección viral de alguno de estos virus durante un periodo epidémico en el país.

## 4. Marco teórico

### 4.1 Generalidades virus dengue, Zika y chikungunya

El término Arbovirus (una abreviatura que significa “arthropod-borne virus”) se ha utilizado a lo largo de la historia para referirse a aquellos virus que pueden ser transmitidos por artrópodos, por ejemplo los mosquitos, garrapatas y moscas(30). Este término agrupa virus de familias como Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae y Reoviridae, que a su vez se clasifican más detalladamente en géneros por características físicas, morfológicas y biológicas(31). Los virus DENV, ZIKV y CHIKV se engloban dentro de este término, ya que son transmitidos por mosquitos hembra del género *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus*(30). Sin embargo, cada uno de estos virus posee sellos distintivos tanto en la estructura y composición neta del virión como en la patogénesis que desarrolla un individuo al momento de infectarse con uno o más de los tres virus, por ende, resulta importante comprender estas características que se explican más adelante.

**Virus dengue:** El virus dengue (acrónimo oficial DENV) hace parte de la familia Flaviviridae género Flavivirus, este virus consta además de cuatro serotipos (DENV1-4) que se encuentran agrupados en un mismo serocomplejo (32), no obstante, las diferencias de aminoácidos entre los serotipos de este virus llegan hasta el 40 % e inclusive se han establecido grupos antigénicamente distintos entre serotipos (33,34). Típicamente el DENV se encuentra en entornos poblados endémicos o hiperendémicos, en donde sus hospederos son los humanos y los mosquitos, sin embargo, también se puede encontrar en zonas no pobladas (selváticas y boscosas por ejemplo) donde la transmisión vectorial se dirige a los primates principalmente y no existe ningún tipo de control vectorial(35).

Ahora bien, los viriones de DENV miden de 40 a 50 nm y están cubiertos por una capa lipídica (figura 1), el genoma viral es un ARN de sentido positivo de aproximadamente 11 kb que codifica para tres proteínas estructurales y siete no estructurales; por su parte la proteína estructural (E), la proteína precursora de membrana (prM) y la capsida (C) constituyen las proteínas estructurales, mientras que las proteínas NS1, NS2A/B, NS3, NS4A/B y NS5 constituyen las proteínas no estructurales(34,36).

Una infección por alguno de los serotipos de DENV puede terminar en dengue, dengue con signos de alarma o dengue grave, según la nueva clasificación de niveles de gravedad de esta infección(37). No obstante una parte considerable de las infecciones por DENV ( $\approx 50\%$ ) se cursan de una manera asintomática(6). Para el caso de los sintomáticos, en donde el periodo febril dura de 2 a 7 días y se acompaña de signos como leucopenia, erupciones cutáneas y dolores generalizados(37), durante la defervescencia, la infección se resuelve en la mayoría de los pacientes(38), pero en algunos casos se presenta fuga plasmática que es el factor de riesgo más asociado al desarrollo de dengue grave(39), en tanto es una consecuencia del daño endotelial constituido como el centro de la patogénesis del dengue grave en el que intervienen no solo proteínas del virus (NS1 específicamente) si no también citoquinas producidas por perfiles Th2 e incluso anticuerpos propios del huésped (40,41). El desarrollo la enfermedad severa por dengue puede estar relacionado con la cepa viral infectante(42), la tormenta de citoquinas(43) y características genéticas(44), además el fenómeno conocido como amplificación dependiente de anticuerpos (Antibody dependent enhancement, ADE) es el mayor factor de riesgo para desarrollar dengue grave(45).

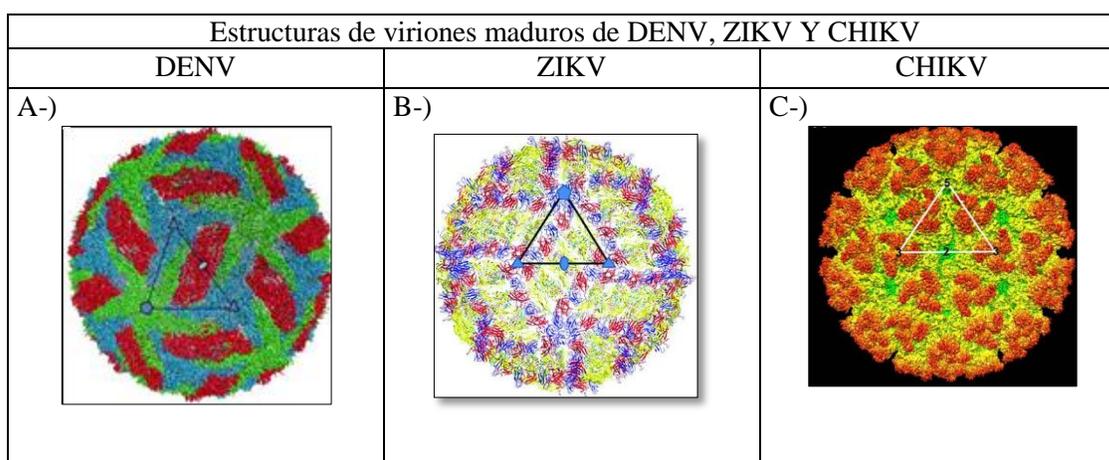
**Virus Zika:** El nombre de este virus hace referencia al lugar (bosque de Zika, Uganda) donde se realizó el primer aislamiento del virus a partir de un mono Rhesus(46). Al igual que DENV,

ZIKV pertenece a la familia Flaviviridae genero Flavivirus, por ende presenta la misma organización genómica que DENV (3 proteínas estructurales y 7 no estructurales) y la superficie del virión está recubierta por la proteína E con múltiples copias de la proteína M insertadas(46).

Aunque se estima que más del 70% de las personas que se infectan con ZIKV son asintomáticos(7), este virus se ha convertido en un importante problema de salud pública pues además de los signos que acompañan a una presentación clásica de la infección (fiebre, fotofobia, dolor muscular, rash cutáneo), se ha demostrado la asociación de ZIKV con el desarrollo del síndrome de Guillain-Barré y la presentación de microcefalia en neonatos de madres infectadas con ZIKV durante el periodo de gestación ( en especial los primeros 3 meses )(47). Este síndrome comprende características como la microcefalia grave, las cicatrices maculares y las contracturas congénitas; que le otorgan un sello claro y distintivo de otras infecciones congénitas.(48); esta patogénesis que le proporciona un sello distintivo a ZIKV de otros arbovirus podría estar explicada por su tropismo, in vivo en modelos de ratón se estableció que ZIKV puede infectar células placentarias y por consiguiente transmitirse de manera vertical al feto(49), adicionalmente ZIKV también infecta células progenitoras neuronales humanas ( hNPC) y de manera interesante, además de su susceptibilidad al virus, estudios en neuroesferas revelan que las hNPC infectadas con ZIKV generan muy pocas neuroesferas, es decir que la infección de hNPC por ZIKV disminuye la maduración neuronal del feto(50). La evidencia de microcefalia junto con una evidencia de corteza cerebral delgada, manchas retinadas pigmentadas, contracturas congénitas e hipertonía, que se manifiestan en el recién nacido de una madre infectada con ZIKV durante el embarazo constituyen los cinco signos clave para un diagnóstico de síndrome congénito de Zika (ZCS)(51).

**Virus Chikungunya:** El virus chikungunya (CHIKV) a diferencia de DENV y ZIKV pertenece a género *Alfavirus*, familia *Togaviridae*(52). Se aisló por primera vez en Tanzania en 1952 y su nombre se le atribuye a una palabra del idioma kimakonde cuyo significado es “ lo que se dobla” debido a la postura encorvada de las personas que se infectan con el virus(53). El virión mide aproximadamente 70 nm ( figura 3 )y su genoma es un ARN codificante de 11.8 kb que codifica para siete proteínas estructurales (Cápside, pE2, E3, E2, 6K, TF y E1) y cuatro proteínas no estructurales (nsP1, nsP2, nsP3 y nsP4)(52).

Los síntomas de infección por CHIKV suelen empezar de uno a doce días después de la inoculación viral por el vector, en esta fase aguda se presenta fiebre por encima de los 39 °C y a diferencia de otros arbovirus, un dolor articular severo acompañado de otros signos menos discriminatorios como cefalea, vomito, rash y conjuntivitis (54). Cuando el periodo de convalecencia se concluye, es posible que los individuos sigan presentando artralgia inflamatoria en las articulaciones involucradas en la fase aguda inclusive hasta tres años después de haber cursado con la infección(55)



**Figura 1.** Estructuras de viriones maduros de DENV, ZIKV Y CHIKV tomadas a 3,5 Å, 3,8 Å y 2,8 Å respectivamente. Los triángulos indican las unidades asimétricas icosaédricas (56–58).

#### 4.2 Epidemiología de la infección por virus dengue, Zika y chikungunya

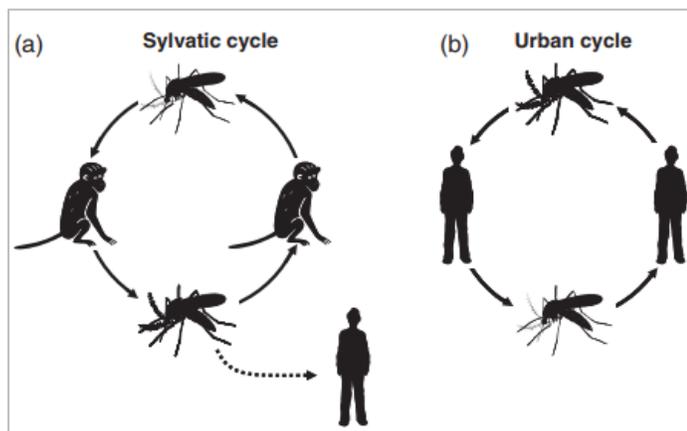
Particularmente DENV es la infección viral transmitida por un vector con más incidencia de casos en Colombia(1). Se estima que en todo el mundo 4.000 millones de personas viven en zonas endémicas para DENV y cálculos epidemiológicos estiman que ocurren 390 millones de casos por año, de los cuales un máximo de 1.000.000 son diagnosticados como dengue grave y 20.000 de ellos (especialmente niños) terminan en desenlaces fatales a causa de la infección(5). Para el año 2019, Colombia reportó un aumento de este evento en salud del 284.5% en relación al 2018, con un total de 127.553 casos de DENV entre los cuales 64.716 presentaron signos de alarma y solo el 1.1% de estos termino en dengue grave (59), En el presente año a mes de Enero se habían presentado 12.071 eventos de DENV (60).

El 15 de mayo de 2015 se confirmó el primer caso de ZIKV en un paciente de Bahía, Brasil y a finales del mismo año las cifras de casos de ZIKV superaron los 440.000 eventos, en el mismo año(61), el segundo país en confirmar infecciones por ZIKV fue Colombia que terminó con 14.000 casos reportados a finales de enero de 2016(62), sin embargo en el 2019 solo se informaron 429 casos (63). De manera interesante, a pesar de que ZIKV se aisló por primera vez en África, solo se reportaban infecciones esporádicas pero entre septiembre y diciembre de 2015 se reportaron más de 5.000 casos de infección por ZIKV en Cabo verde(64); es de resaltar también que en algunas islas del Pacífico existieron brotes de ZIKV antes de 2015, por ejemplo en la Polinesia Francesa a finales del 2013 se registraron 19.000 casos sospechosos de ZIKV(65).

Para el caso de CHIKV, desde el 2004 se ha evidenciado eventos del mismo (de los dos genotipos de cepa conocido) tanto en las Américas como en Asia, Europa y las islas del Pacífico, en especial en los países que se encuentran en el trópico(66). En las Américas para el año 2014 se estimó que el número de pacientes con enfermedad aguda por CHIKV fue de 855.890 y el 48% desarrollaron manifestaciones crónicas de la infección(67). En el 2019 en se reportaron 535 casos confirmados de CHIKV(68), sin embargo solo 48 de estos casos fueron confirmados por laboratorio y sería plausible pensar que la cifra verdadera de eventos se podría estar subestimando ya que DENV y ZIKV presentan cuadros clínicos muy parecidos.

#### 4.3 Virus dengue, Zika y chikungunya como posibles virus transmitidos por transfusión (TTV)

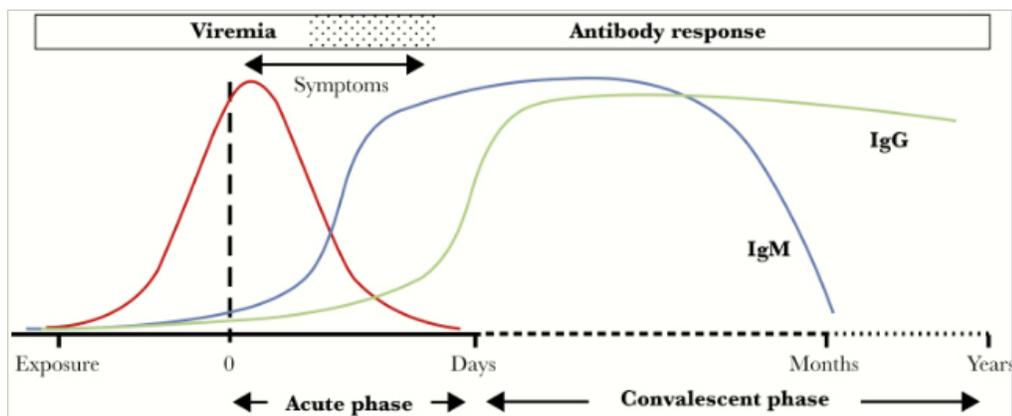
El clásico ciclo de transmisión urbana de los arbovirus sucede entre artrópodos hematófagos que transmiten el virus a los humanos durante su picadura, no obstante, muy pocos de estos como el DENV, ZIKV Y CHIKV son capaces de generar grandes cargas virales para hacer que el humano pueda transmitir de nuevo el virus al vector. Como se observa en la figura 2, estos virus también pueden infectar a otros huéspedes vertebrados susceptibles distintos al humano, de hecho, la mayor parte de estos arbovirus se encuentran en zonas selváticas en ciclos enzoóticos.



**Figura 2.** Representación del ciclo de transmisión selvático y urbano de los arbovirus. (a) En entornos selváticos, los arbovirus transmitidos por artrópodos hematófagos causan enfermedades enzoóticas en vertebrados como primates y/o humanos que eventualmente transiten por estas zonas. (b) En entornos urbanos, solo los arbovirus capaces de generar grandes cargas virales en el humano pueden iniciar ciclos de transmisión entre ellos y artrópodos hematófagos que actúan como vectores. Recuperado de Petersen., *et al* (69)

Ahora bien, las infecciones virales pueden ser potencialmente transmitidas por vías alternas a las clásicas como la transfusión y causar en el paciente el cuadro clínico típico de la misma. Sin embargo, la AABB (American Association of Blood Banks ) desde 1985 ha establecido algunas pruebas para evitar que virus de importancia clínica sean transmitidos por transfusión (TT); los virus que se encuentran dentro del tamizaje serológico son el virus de la inmunodeficiencia humana ( HIV), la hepatitis C ( HCV), la hepatitis B (HBV), el virus linfotrópico de células T ( HTLV) y el virus del Nilo occidental (WNV), este último no se realiza en Colombia (70), no obstante, a pesar de estas pruebas de tamizaje, siguen existiendo otros virus circulantes a los que no se les realiza ninguna prueba de detección y sus características les permiten ser potencialmente transmitidos por transfusión, tal es el caso de los arbovirus como el DENV, ZIKV y CHIKV. En primera instancia, la infección por alguno de estos tres virus se puede cursar de manera asintomática(71), es decir, una persona virémica puede realizar una donación sin nunca enterarse que se encuentra infectada por estos virus. Por otra parte, en caso de que la infección sea sintomática, la cinética de una infección por Flavivirus, evidencia que los signos de estas se pueden presentar de 2 a 5 días posteriores a la inoculación viral (figura.3) por parte del mosquito(72) y se pueden presentar donaciones de pacientes que aún no presenten los síntomas pero que posean elevadas viremias de hasta 10<sup>6</sup> copias virales por mL(73) . En adición, en áreas endémicas el vector y el hospedero están en constante interacción, por la cual, la picadura del mosquito se puede presentar en cualquier momento y el posible donante nunca

tendrá certeza de cuando se infectó (74). Con esta explicación, resulta plausible que estos arbovirus puedan estar presentes en las unidades de sangre sin ser detectados e inclusive pueden transfundirse a uno o más receptores.



**Figura 3.** Representación de la cinética clásica de una infección por Flavivirus. La viremia, representada por líneas rojas puede ascender desde el momento de la exposición al virus a altas concentraciones virales sin que aún se puedan evidenciar síntomas, en esta fase aguda se utilizan técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT), aislamiento viral y detección de antígenos para detectar la infección. Durante la fase convalescente, la detección serológica de IgM (líneas azules) e IgG (líneas verdes) en elevadas concentraciones es comúnmente utilizada para identificar una infección reciente. Recuperado de Goncalves *.,et al* (75)

## 5. Metodología

El presente estudio fue de tipo observacional, analítico de corte transversal

**Población y muestra:** Donantes de sangre que asistieron a los diferentes bancos de sangre que pertenecen a la red de la Cruz Roja Colombiana que se encuentran localizados en Medellín, Bogotá, Cartagena, Manizales, Armenia y Cali. En 2017, la cantidad de donaciones que recibieron cada uno de estos bancos de sangre, provenientes de su ciudad de localización y municipios aledaños, fue:

- Medellín, Antioquia: 23.388
- Bogotá, Cundinamarca: 26.730
- Cartagena, Bolivar: 6.987
- Manizales, Caldas: 24.894
- Armenia, Quindío: 5.678
- Cali, Valle: 26.961

De acuerdo con un informe publicado el 12 de marzo de 2019 por la Red Nacional de Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión (Instituto Nacional de Salud)(76), estos 6 bancos de sangre representan el 7.3% de los 82 bancos de sangre existentes en el país. Sin embargo, 4 de ellos hacen parte de los 16 bancos de sangre que captaron más de 12.000 unidades de sangre total en el año 2016, un grupo que procesó el 55.1% del total de sangre captada a nivel nacional. Adicionalmente, la red de bancos de sangre de la Cruz Roja Colombiana tiene presencia en 3 de los 4 departamentos con mayor número de donaciones en el país (Antioquia, Bogotá, Santander y Valle)(76).

El tamaño de la muestra fue de 474 sueros. Cada muestra de suero tuvo un volumen de aproximadamente 1 ml y se recolectaron entre la semana epidemiológica (SE) 48 de 2019 y SE 7 de 2020. Dado que a lo largo del año se colecta un número muy parecido de unidades de sangre por mes en cada uno de los bancos de sangre participantes, no resultó relevante definir en cuáles meses del año en particular se recolectarían las muestras, sin embargo, se tuvo en cuenta la fecha de inicio del proyecto.

Considerando que se detectó RNA viral en muestras de suero, las muestras colectadas fueron almacenadas entre  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-30^{\circ}\text{C}$  en cada banco de sangre hasta por máximo 1 semana antes de realizar el envío (en hielo seco) al Instituto de Virología de la Universidad El Bosque, donde fueron almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento y análisis.

**Extracción de ARN:** La extracción de ARN se llevó a cabo usando el Kit RTP DNA/ RNA Virus Mini Kit (Stratec) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para esto, 200 microlitros de suero de cada donante fueron usados. Es de resaltar que esta extracción de ARN se realizó en un plazo de máximo 8 horas después de que las muestras fueron entregadas al Instituto de Virología de la Universidad El Bosque.

**Detección de virus:** El ARN de cada virus (DENV, ZIKV y CHIKV) fue detectado en las extracciones de RNA provenientes de las muestras de suero utilizando un protocolo de RT-PCR semi anidada, de un solo paso, para esto se utilizaron primers previamente descritos y/o estandarizados por el Instituto de Virología de la Universidad El Bosque (Tabla 1). Se utilizó inicialmente un set de 6 primers externos que amplifican segmentos de entre 301 a 511 pb en los genes C-preM, NSP4 y E de DENV, CHIKV Y ZIKV respectivamente. Posteriormente, durante

la segunda ronda de amplificación se utilizaron primers internos que detectaron cada virus en reacciones separadas. Para DENV, fue posible identificar el serotipo presente.

**Tabla 1.** Descripción de cebadores Externos e Internos usados en la detección de DENV, CHIKV Y ZIKV mediante PCR semi anidada.

Descripción de cebadores Externos e Internos usados en la detección de DENV, CHIKV Y ZIKV mediante PCR semi anidada				
Virus	Reacción	Secuencia 5'	Amplicón (pb)	Referencia
CHIKV	RT-PCR	F Lan 6856 TCACTCCCTGTTGGACTTGATAGA R		Lanciotti., <i>et al</i> (77) Instituto de Virología Universidad El Bosque
	PCR	F Lan6856 TCACTCCCTGTTGGACTTGATAGA R Lan6919TTGACGAACAGAGTTAGGAACATACC	125	Lanciotti., <i>et al</i> (77)
DENV	RT- PCR	mD1: AGTTGTTAGTCTRYGTGGACCGAC D2: TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC	511	Chien., <i>et al</i> (78)
	PCR	D1-TS1: CCCGTAACACTTTGATCGC D2-TS2: CGCCACAAGGGCCATGAACAGTTT D1-TS3: TAACATCATCATGAGACAGAGC D1-TS4: TTCTCCCGTTCAGGATGTTC	211	Chien., <i>et al</i> (78)
			119	
			288	
266				
ZIKV	RT-PCR	MF 944: GGTCATGATACTGCTGATTGC ER 1269: CCACTAACGTTCTTTTGCAGAC	325	Calvo., <i>et al</i> (79)
	PCR	MF 944: GGTCATGATACTGCTGATTGC ER 1241: AGTGTCTGACTGCTTGTC AAGG	297	Calvo., <i>et al</i> (79)

Nota: Algunas parejas de primers no se encuentran reportadas aún, en tanto fueron desarrolladas recientemente por el Instituto de Virología de la Universidad el Bosque para la detección molecular de arbovirus

**Encuesta para donantes positivos a alguno de los virus:** En los donantes que se identificó RNA viral, se realizó una encuesta (ver anexo 1) entre las 2 y 3 semanas posteriores a la donación de sangre infectada para identificar síntomas compatibles con una arbovirosis, y establecerlos como sintomáticos, subclínicos o asintomáticos.

**Análisis de los datos:** Para la comparación de la frecuencia de los virus entre ciudades endémicas y no endémicas, se utilizó la prueba de chi cuadrado ( $p < 0,05$ ) y se realizaron comparaciones por columna con la prueba z (post hoc) ( $p < 0,01$ ). Para ello Se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS v25.

**Consideraciones éticas:** Este proyecto se llevó a cabo bajo toda la normatividad ética vigente, tal como se establece en la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud. De acuerdo con el Título II, Capítulo 1, Artículo 11 este trabajo se clasifica como una investigación de riesgo mínimo.

Los donantes fueron atendidos y seleccionados siguiendo los lineamientos para la selección de donantes de sangre del Instituto Nacional de Salud de Colombia y los procedimientos estándar de los bancos de sangre de la Cruz Roja Colombiana. Los donantes otorgaron su consentimiento informado para la extracción y procesamiento de sangre para fines terapéuticos y/o de investigación. Se siguieron los procedimientos para manejo de materiales con riesgo biológico y las normas para disposición de residuos.

Cada donante que aceptó participar en el estudio firmó un consentimiento informado específico y se le tomó una muestra adicional de sangre venosa del brazo en un tubo tapa amarilla de 7 ml, usando el mismo acceso venoso empleado durante la donación. No fue necesario un procedimiento de venopunción adicional. El personal encargado de aplicar este consentimiento informado específico fue el mismo que se encargó de reclutar los donantes en cada banco de sangre. Cada integrante de este grupo multidisciplinario de profesionales fue capacitado por el investigador principal del proyecto para conocer en detalle cada uno de los objetivos del estudio, sus antecedentes, justificación, metodología y posibles riesgos. Adicionalmente, durante el

periodo de recolección de las muestras, se abrió un canal de comunicación directa y en simultánea entre este grupo de profesionales y los investigadores del proyecto.

Los donantes que resultaron positivos para alguno de los virus en estudio fueron notificados del resultado, siguiendo el protocolo de canalización de donantes reactivos establecido por el Instituto Nacional de Salud en los lineamientos para la selección de donantes de sangre, versión 2018. Se tomaron las medidas necesarias para garantizar la confidencialidad de los datos de los donantes de acuerdo con la Ley para la protección de datos personales. En el caso específico en el que fue positiva la prueba de detección de virus Zika, debido a que este virus también puede transmitirse por contacto sexual y cuando se produce infección en mujeres embarazadas existe el riesgo de malformaciones al feto, se tomaron las siguientes medidas adicionales:

1. El donante fue diferido para donar sangre por 120 días.
2. Los componentes sanguíneos obtenidos de la donación fueron descartados.
3. Para el caso de los componentes sanguíneos obtenidos de la donación que fueron transfundidos, el servicio transfusional y el médico tratante que ordenó la transfusión fueron contactados por parte del banco de sangre para informar del resultado positivo para virus Zika.

En el momento de la obtención de las muestras de los donantes, las muestras para este estudio fueron rotuladas con un código diferente al de la bolsa de sangre y que fue asignado por el banco de sangre con el fin de que no sea posible la identificación del donante; sólo el banco de sangre que atendió a cada donante conoció y custodió la información personal de cada donante.

## **6. Resultados**

**Descripción de la población estudiada:** Entre las SE 48 (24-30 noviembre) de 2019 y 7 (9-15 de febrero) de 2020, se recolectaron un total de 474 muestras de donantes de sangre (DS) de seis ciudades de Colombia, de las cuales 458 fueron analizadas. El número de muestras que se recolectaron por ciudad se calculó teniendo en cuenta el número de donaciones por año que se realizan en cada ciudad.

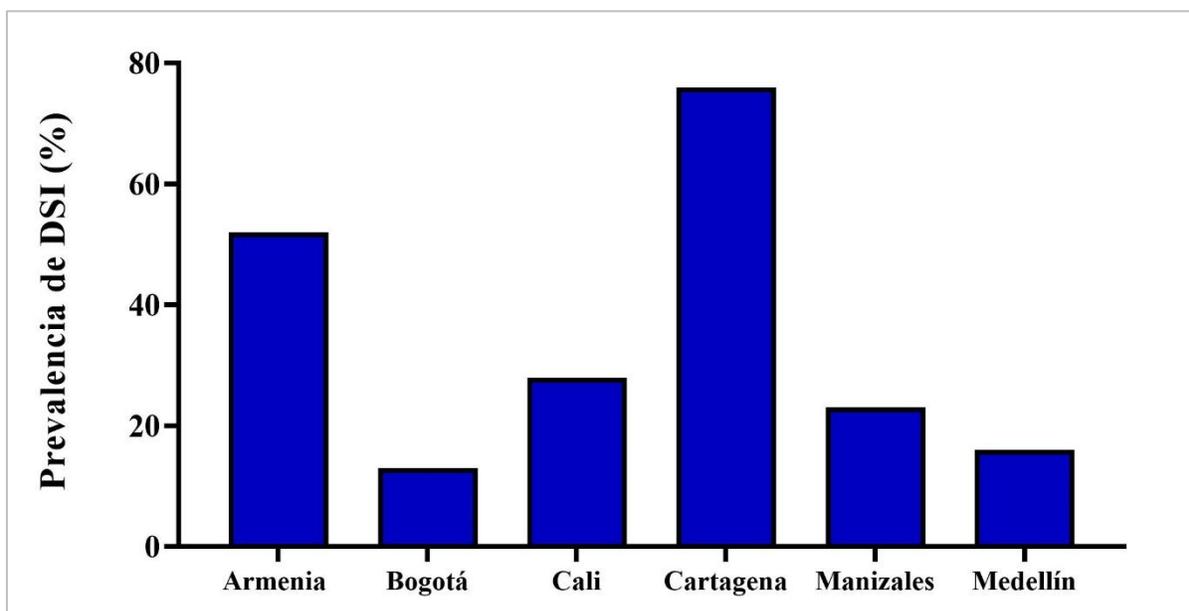
**Identificación molecular de DENV, ZIKV Y CHIKV en donantes de sangre:** Durante el análisis de las muestras de DS, se identificó ARN viral de al menos 1 de los 3 arbovirus en 113 muestras, que representaron una prevalencia del 25% respecto al total de muestras analizadas. En la tabla 2 se puede apreciar el número de muestras que se analizaron por ciudad y el número de muestras que resultaron positivas para algún arbovirus. En el anexo 2 se muestra el resultado de una RT-PCR semi anidada en la que se evidencian donantes de sangre infectados (DSI); los productos de PCR fueron corridos en un gel de agarosa al 2%.

**Tabla 2.** Número de muestras Analizadas y Positivas para algún arbovirus por ciudad.

Ciudad	Muestras Analizadas	Muestras Positivas
Amrenia	26	13
Bogotá	86	11
Cali	125	35
Cartagena	17	13
Manizaes	127	29
Medellín	77	12
Total	458	113

Debido a esta prevalencia, se quiso identificar las ciudades en las que más se detectaron DSI y, para esto, se realizó un análisis de la prevalencia de DSI por cada ciudad. Con esto se encontró

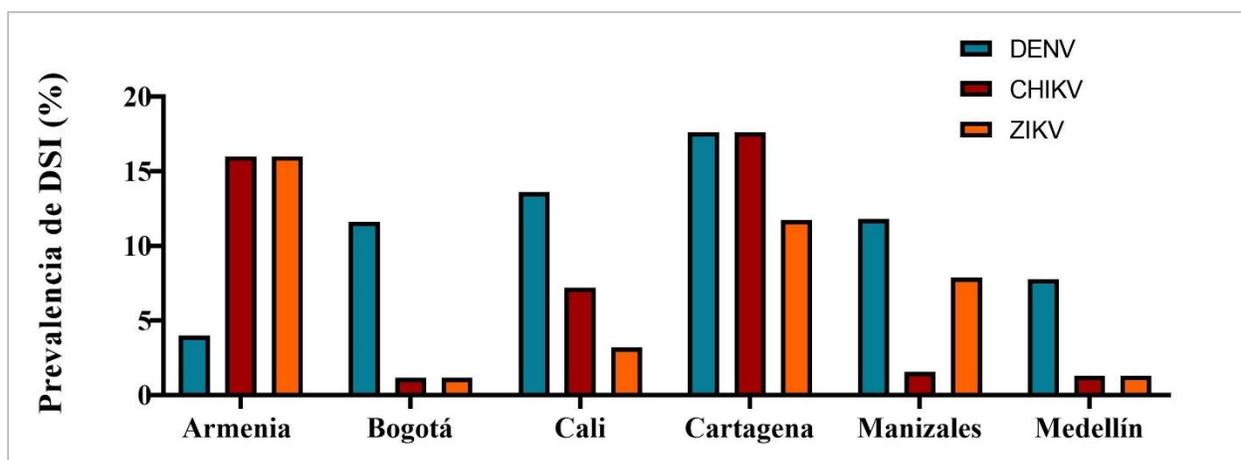
que el mayor número de DSI se encontraban en Cartagena con una prevalencia del 76% y Armenia con una prevalencia del 50%, seguidas por Cali (28%), Manizales (23%), Medellín (16%) y Bogotá (13%) (Figura 4), De esta manera, estos resultados indican que Cartagena y Armenia son las ciudades analizadas en donde más se encuentran DSI.



**Figura 4.** Prevalencia de donantes de sangre infectados (DSI) con alguno de los tres arbovirus en cada ciudad. La prevalencia se calculó dividiendo el número de DSI por ciudad sobre el total de muestras recolectadas en cada una de ellas.

Ahora bien, debido a que en el presente estudio además de la prevalencia de DSI general se buscaba identificar también la prevalencia de DENV, ZIKV Y CHIKV por separado en los DS, también se calculó la prevalencia de DSI para cada virus en cada una de las seis ciudades, sin embargo, al momento de realizar este análisis se notó que en algunos DSI existía más de un arbovirus infectante, por lo tanto, en primer lugar, se optó por calcular la prevalencia de los tres arbovirus infectante, por lo tanto, en primer lugar, se optó por calcular la prevalencia de los tres arbovirus en los DSI que solo estaban infectados por un virus (monoinfecciones) en cada ciudad e incluir por separado la prevalencia de los DSI coinfectados (DSC); estas coinfecciones serán

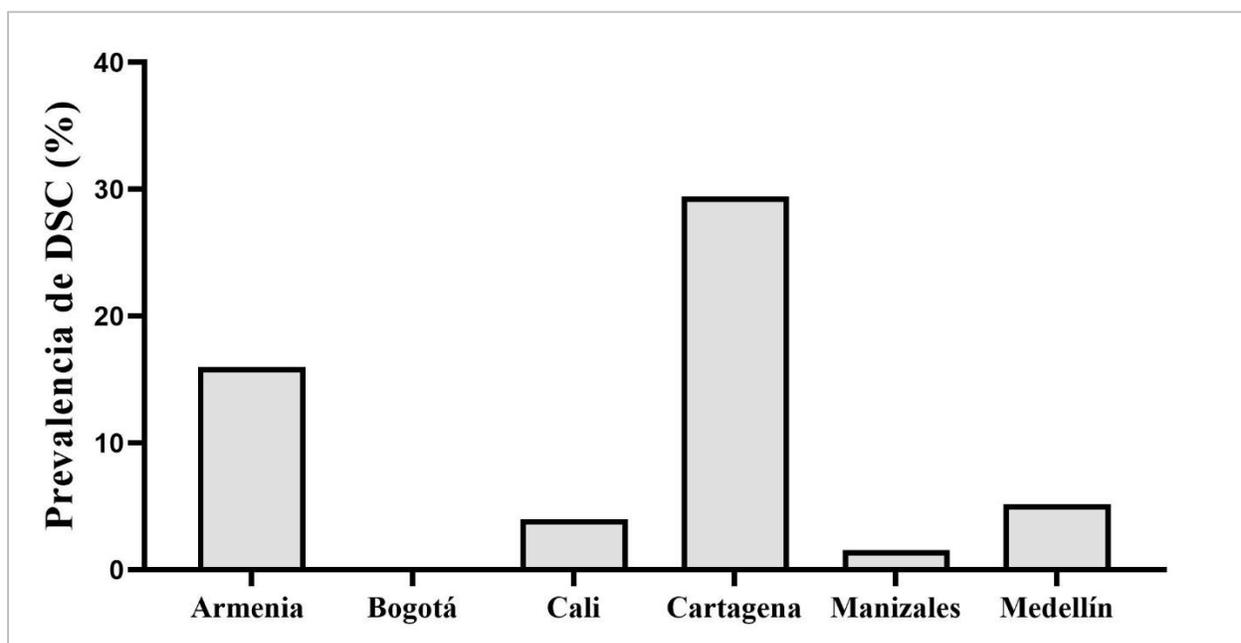
descritas con más detalle en el siguiente enunciado. La prevalencia de arbovirus en los DSI que cursaron con mono infecciones de DENV, CHIKV y ZIKV respectivamente, fue de 17.6%, 17.6% y 11.7% en Cartagena, 4 % y 15.3% para CHIKV y ZIKV en Armenia, 13.6%, 7.2% y 3.2% en Cali, 11.8%, 1.5% y 7.8% en Manizales, 10.4% , 1.6% para CHIKV y ZIKV en Bogotá y por ultimo Medellín con 7.9% y 1.2% para CHIKV y ZIKV ( Figura 5). Estos resultados sugieren que, en todas las ciudades del estudio, ya sean endémicas o no endémicas, existe una circulación de DENV, ZIKV y CHIKV.



**Figura 5.** Prevalencia de DSI con DENV, ZIKV o CHIKV (mono infecciones) en las seis ciudades del estudio. La prevalencia se calculó teniendo en cuenta el número de muestras de DSI que fueron positivas para DENV, ZIKV o CHIKV dividido entre el número de muestras analizadas por ciudad

Como se mencionó anteriormente, la prevalencia de los DSC por ciudad se calculó por separado, esto porque si se incluyeran los virus infectantes de cada DSC en el cálculo de la prevalencia por arbovirus por ciudad, el resultado de la prevalencia de DSI estaría por encima del que se reportó como prevalencia total de DSI infectados con al menos un arbovirus. Cabe resaltar que la única

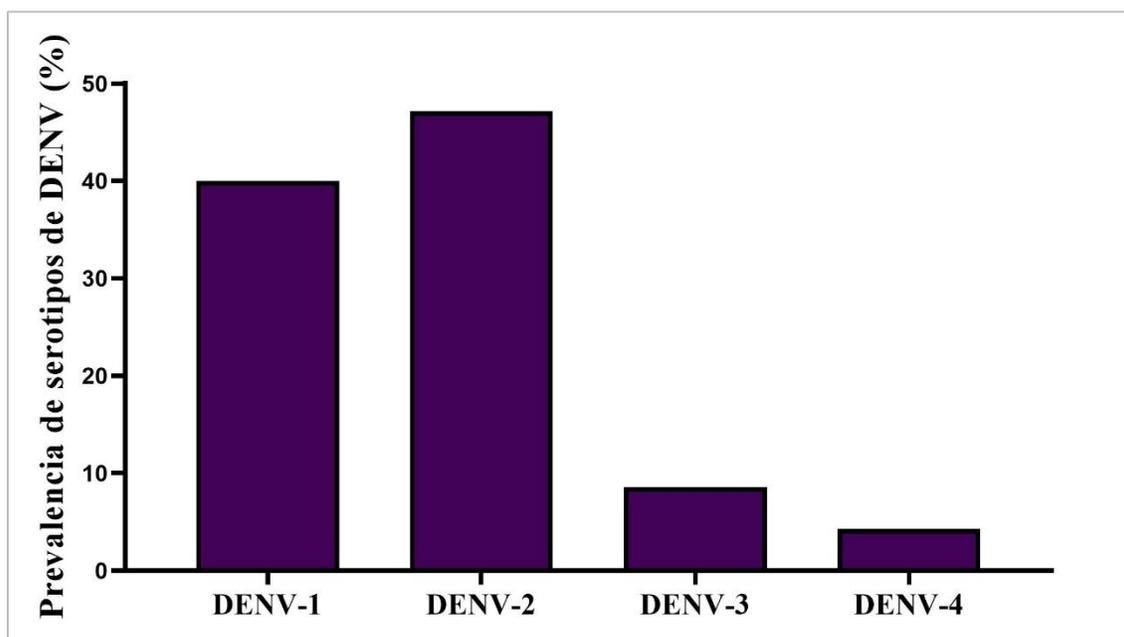
ciudad en la que no se encontraron DSC fue Bogotá, de aquí que la prevalencia total encontrada en la ciudad (13%) se refleje al sumar el porcentaje de DSI con monoinfecciones encontradas para cada uno de los virus. De esta manera, se identificó la prevalencia de coinfecciones en los DSI, encontrando una prevalencia de DSC de un 29.4% en Cartagena, 15.3% en Armenia, 5.1% en Medellín, 4% en Cali, 1.5% en Manizales, y 0% en Bogotá (Figura 6). Con esto se evidenció que en 5 de las seis ciudades del estudio circula más de un arbovirus generando coinfecciones que, como en Cartagena, pueden llegar a representar un alto porcentaje del total de infecciones detectadas.



**Figura 6.** Prevalencia de DSC en las seis ciudades del estudio. La prevalencia se calculó teniendo en cuenta el número de muestras de DSC que fueron positivas para DENV, ZIKV y/o CHIKV dividido en el total de muestras analizadas por ciudad

Por otro lado, considerando que Colombia es un país hiperendémico para DENV donde los cuatro serotipos circulan en un amplio porcentaje del territorio nacional, se analizó cuáles

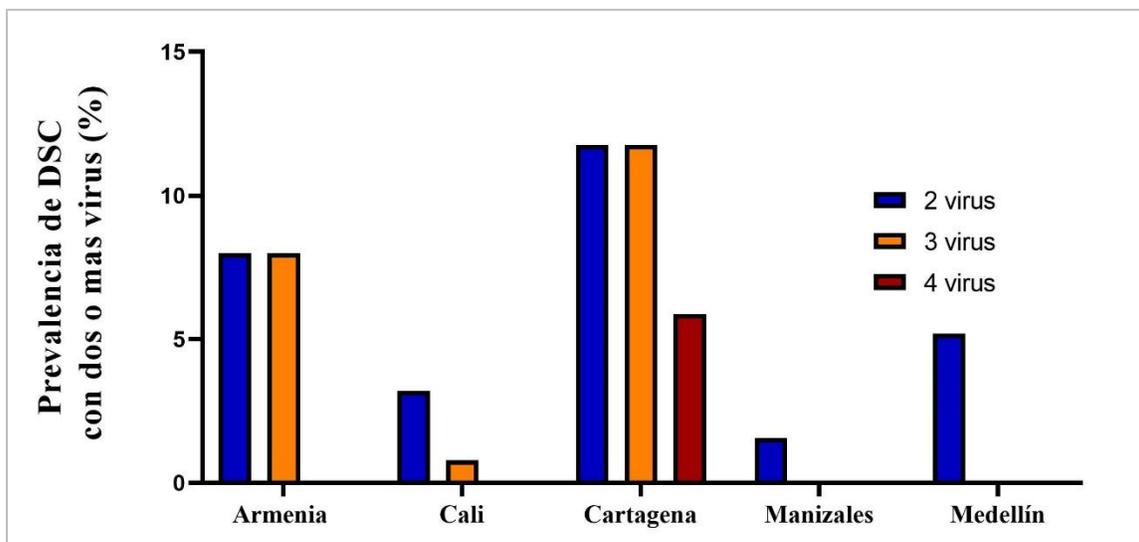
serotipos habían sido detectados y la proporción de cada uno en el total de muestras de DSI con DENV. Para esto, se llevó a cabo un análisis de la circulación de los cuatro serotipos en los DSI infectados con DENV, encontrando una prevalencia del 40% para DENV-1, 47.1% para DENV-2, 8.5% Para DENV-3 y 4.2 para DENV-4 (Figura 7). Con este resultado se puede confirmar que los cuatro serotipos de DENV se encuentran circulando actualmente en el país, siendo los serotipos dos y uno los más prevalentes.



**Figura 7.** Prevalencia de los cuatro serotipos de DENV (DENV-1-DENV-4) en DSI con DENV de todas las ciudades. El cálculo se realizó dividiendo el número de DSI con cada serotipo de DENV entre el número total de DSI con DENV

**Coinfecciones entre virus DENV, ZIKV y/o CHIKV:** Como ya se mencionó, además de identificar DSI con algún arbovirus, se evidenció que algunos de los DSI presentaban

coinfecciones. De hecho, por ejemplo, en Cartagena, algunos de los virus identificados en cada semana epidemiológica por ciudad provenían de un mismo donante (Anexo 3). Basados en lo anterior, se procedió a identificar si estas coinfecciones habían involucrado dos o más de los virus en estudio; para esto, se analizaron todos los virus que se detectaron en cada uno de los DSI de todas las ciudades (Anexo 3) y se encontró que en total existían 20 DSC, en otras palabras, del total de 113 DSI que se encontraron en el estudio, 20 (17.7%) fueron DSC. En estos 20 DSC existían coinfecciones de dos virus, en 14 de los 20 DSC; otros 5 DSC presentaron coinfecciones triples y 1 DSC presentó una cuádruple infección. Adicional a lo anterior, además de discriminar estas coinfecciones por el número de virus coinfectantes, se calculó también la prevalencia de las coinfecciones dobles, triples y cuádruples por ciudad respecto al número de muestras analizadas en cada una, esto con el fin de identificar las ciudades con mayor prevalencia de DSC con una coinfección doble, triple o cuádruple. Se encontró una prevalencia de coinfecciones dobles del 11.7% (2 DSC) en Cartagena, 8% (2 DSC) en Armenia, 5.1% (4 DSC) en Medellín, 3.2% en Cali (4 DSC), 1.5% (2 DSC) en Manizales y 0% en Bogotá; de coinfecciones triples, se encontró una prevalencia del 11.7% en Cartagena (2 DSC), 8% (2 DSC) en Armenia, 0.8% (1 DSC) en Cali y 0% para el resto de las ciudades y solo se encontró una prevalencia de coinfecciones cuádruples en Cartagena con un 5.8% (1 DSC) (Figura 8).



**Figura 8.** Prevalencia de DSC por ciudad en los que se encontró una coinfección entre dos o más virus. El cálculo de la prevalencia se realizó dividiendo el número de DSC con coinfecciones dobles, triples o cuádruples entre el número de muestras analizadas por cada ciudad.

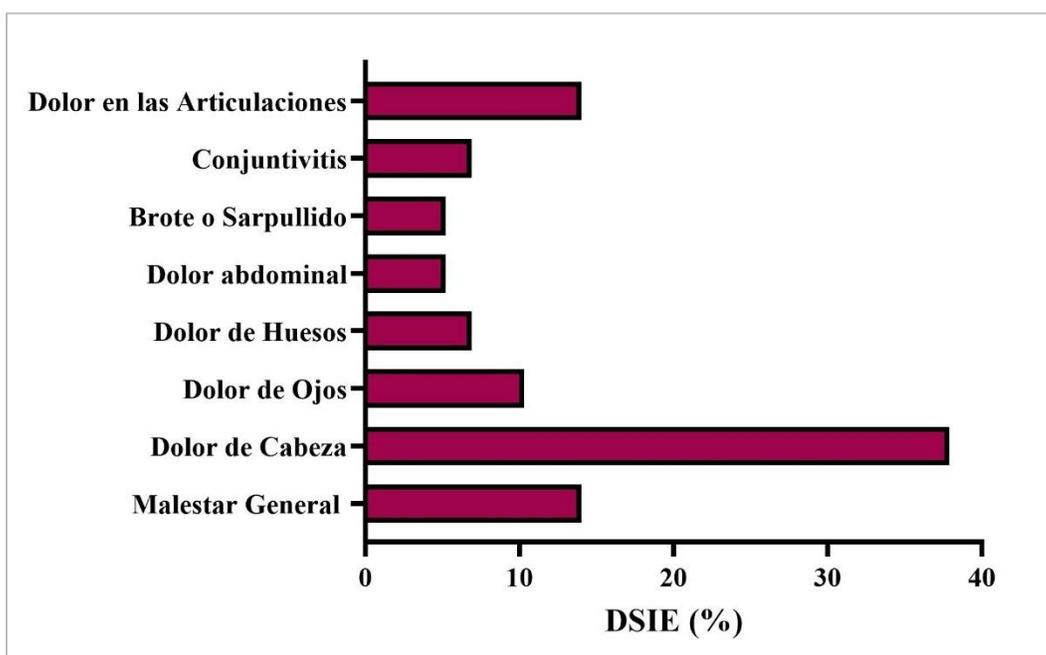
Una vez definido el número de DSC y las ciudades de las que provenían, se determinó si la coinfección había sido entre cualquiera de los serotipos de DENV o si por el contrario involucraba dos o más arbovirus estudiados (DENV, ZIKV y CHIKV). De esta manera, los virus que integraron cada coinfección fueron agrupados, como se muestra en la Tabla 3; cabe resaltar que en Cali se encontró la misma coinfección doble (DENV-1 y ZIKV) en dos DSC, y en Cartagena se encontró la misma coinfección triple (DENV-3, ZIKV y CHIKV) en dos DSC; por otro lado, se encontró la misma coinfección doble entre DENV-1 y CHIKV en donantes de tres ciudades distintas. Lo anterior confirma que, en estas ciudades, la cocirculación de estos arbovirus aumenta la probabilidad de coinfecciones entre la población que allí habita.

**Tabla 3.** Listado de los virus coinfectantes encontrados en cada ciudad.

Virus coinfectantes	CIUDAD				
	Armenia	Cali	Cartagena	Manizales	Medellín
DENV-1/ CHIKV	1	-	-	1	1
DENV-2/ ZIKV	1	1	-	-	-
DENV-1/ DENV-2	-	1	-	-	-
DENV-1/ ZIKV	-	2	-	1	-
DENV-2/ CHIKV	-	-	1	-	-
ZIKV/ CHIKV	-	-	1	-	3
DENV-2/ ZIKV/ CHIKV	1	-	-	-	-
DENV-1/ DENV-3/ CHIKV	-	1	-	-	-
DENV-3/ ZIKV/ CHIKV	-	-	2	-	-
DENV-1/ ZIKV/ CHIKV	1	-	-	-	-
DENV-1/ DENV-2/ ZIKV/ CHIKV	-	-	1	-	-

**Encuesta realizada a DSI con alguno de los tres arbovirus:** Secuencialmente, y adicional a los análisis de prevalencia de infecciones en los DS, se estableció si los DSI habían presentado síntomas relacionados con una arbovirosis para así clasificar las infecciones como sintomáticas, subclínicas o asintomáticas. Según la organización mundial de la salud (OMS), un paciente sintomático con fiebre de dengue (FD) presenta, además de fiebre, náuseas, malestar general, erupción cutánea y/o leucopenia (80), mientras que un paciente asintomático es aquel que no presenta ningún síntoma y uno subclínico es aquel que no presenta fiebre pero sí otros síntomas compatibles con arbovirosis y se ha evidenciado la infección en este ya sea por métodos serológicos o por la identificación directa del virus(81). Al contactar a los DSI, un total de 58 (51.3%) de 113 DSI respondieron la encuesta posdonación (DSIE). En esta encuesta se les preguntó, en primera instancia, si habían presentado fiebre y/o escalofríos. Adicionalmente, se les preguntó si habían presentado otros síntomas como malestar general, dolor de cabeza, dolor de ojos, dolor de huesos, dolor abdominal, brote o sarpullido, conjuntivitis y/o dolor en las articulaciones. Como resultado se evidenció que 58.6% (34 DSIE) manifestaron haber presentado uno o más de los síntomas incluidos en la encuesta, 22 (38%) DSIE presentaron dolor

de cabeza, siendo este el síntoma más común en los DSIE, seguido por el malestar general y dolor en las articulaciones, que fueron presentados por 8 (14%) DSIE (Figura 9). Expuesto lo anterior, dentro de los 34 DSIE que manifestaron haber presentado algún síntoma, 8 de ellos (23%) manifestaron haber presentado fiebre o escalofríos en los 15 días posteriores a la donación. Por otra parte, 24 del total de los 58 DSIE (41.3%) manifestaron no haber presentado ningún síntoma compatible con arbovirosis incluido en la encuesta. Estos resultados sugieren que, de los 58 los DSIE el 13.79% fueron sintomáticos, el 44.8% fueron subclínicos y el 41.3% fueron asintomáticos.



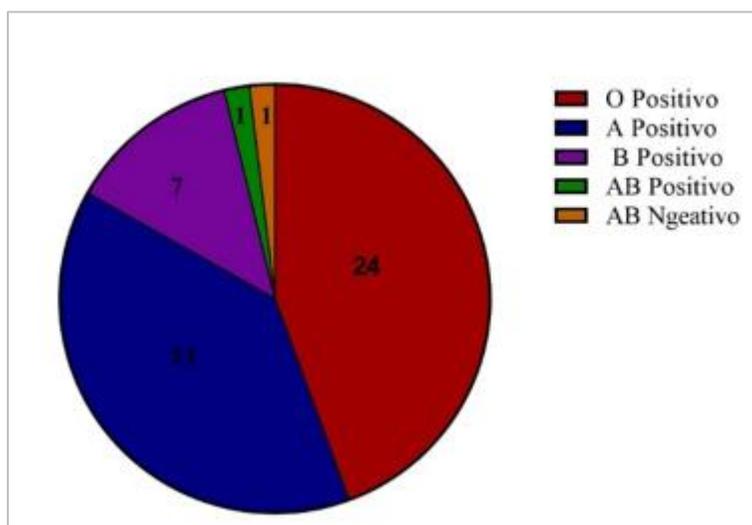
**Figura 9.** Porcentaje de DSIE que presentaron cada uno de los síntomas incluidos en la encuesta. Los 24 (41.37%) DSIE que no presentaron alguno de los síntomas mencionados no se representan en la gráfica.

Además de los síntomas presentados, se determinó en los DSIE infectados exclusivamente con DENV, si estos habían cursado con una infección sintomática previa, esto porque una persona puede cursar infecciones consecutivas heterólogas con FD hasta por cuatro veces (82) a diferencia de ZIKV y CHIK en el que en teoría una persona solo puede infectarse una vez con el virus. Para esto, en primera instancia se excluyeron del total de la población de DSIE, aquellos en los que se identificó solamente ZIKV y/o CHIKV; con esto, se identificó que 39 del total de 58 DSIE cursaron con una infección por DENV y, los resultados de la encuesta indicaron que 34 (87.1%) de los DSIE con DENV no habían cursado con una infección sintomática previa, mientras que los 5 (12.8%) DSIE restantes manifestaron haber sido diagnosticados con DENV alguna vez en su vida, es decir, si cursaron con una infección sintomática previa. Basados en lo anterior, estos resultados indican que una gran parte de nuestra población de DSIE con DENV, no habían cursado con una infección sintomática previa



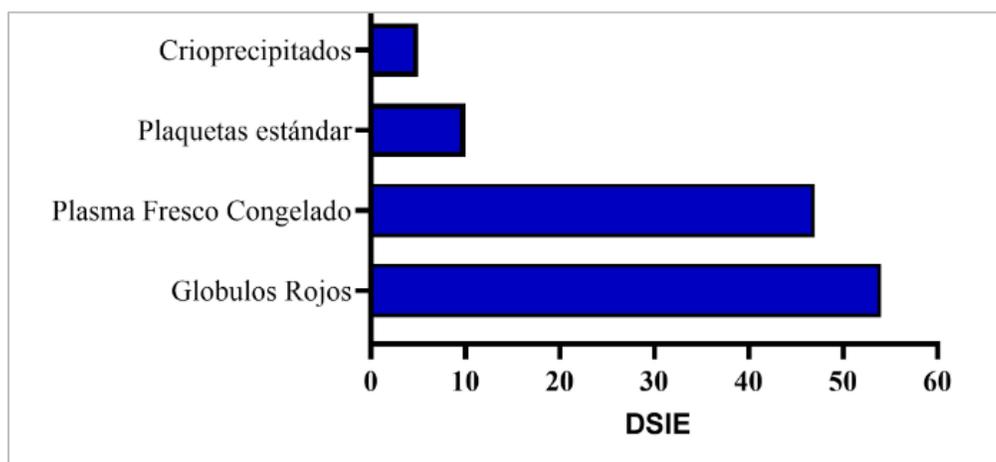
**Figura 10.** Respuesta de DSIE a la pregunta de si habían sido diagnosticados con DENV alguna vez. Esta pregunta estuvo incluida en el cuestionario que se realizó a los DSI que se pudieron contactar.

Por otro lado, con el propósito de tener una visión general respecto a la donación sanguínea en nuestra población, datos proporcionados por la Cruz Roja Colombiana indicaron que este grupo de DSIE lo integraban 25 mujeres (46.3%) y 29 hombres (53.7%), con un promedio de edad de 36.9 años. Por otra parte, la hemoclasificación sanguínea (ABO y RhD) indicó que en los DSIE 24 (44.4%) fueron O Positivo, 21 (38.8%) A positivo, 7 (13%) B positivo, 1(1.9%) AB positivo y 1 (1.9%) AB negativo (Figura 11)



**Figura 11.** Grupos sanguíneo y RhD encontrados en los DSIE. Los numero dentro de la gráfica expresan el número de DSIE

Ahora bien, en lo que respecta a la obtención de hemocomponentes, se evidenció que de los 54 de los DSIE se obtuvieron unidades de glóbulos rojos, de 47 (87%) plasma fresco congelado, de 10 (18.5%) plaquetas estándar (no donadas por aféresis) y de 5 (9.3%) se obtuvieron crioprecipitados (Figura 12).

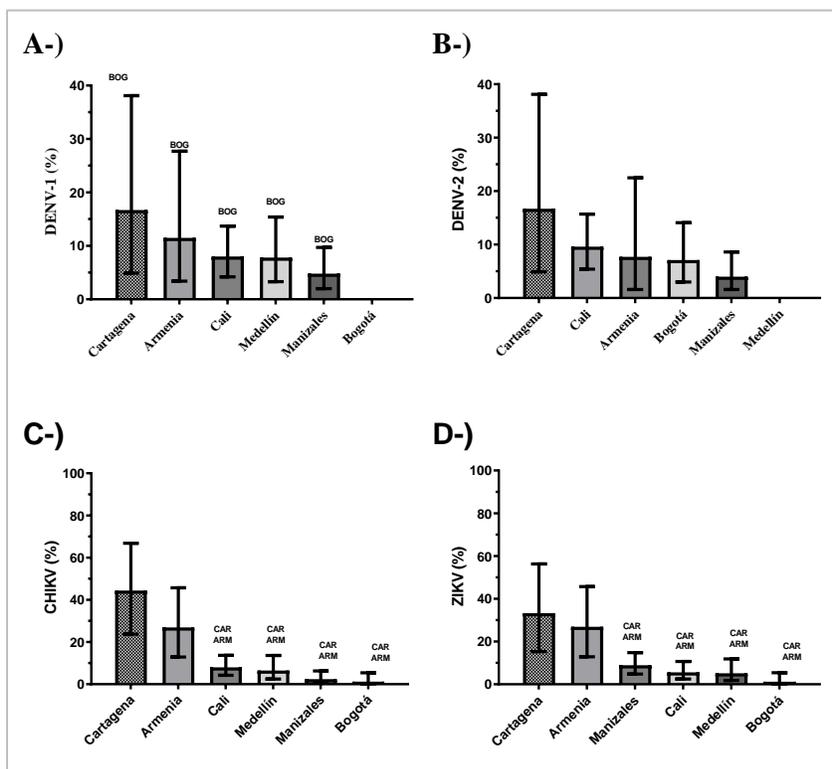


**Figura 12.** hemocomponentes obtenidos a partir de los DSIE.

**Comparación de la Prevalencia de DENV, ZIKV Y CHIKV en DS provenientes de áreas endémicas y no endémicas:** Con el objetivo de comparar la prevalencia de estos arbovirus en ciudades endémicas y no endémicas, en primera instancia se definieron como ciudades no endémicas a Bogotá y Manizales que se encuentran a alturas de 2.630 metros sobre el nivel del mar (msnm) y 2.200 msnm, respectivamente, lo anterior considerando que existen estudios que evidencian que en Colombia solo se han encontrado mosquitos de *Ae. Aegypti* infectados con arbovirus en alturas menores a 1.984 metros sobre el nivel del mar (msnm)(83). Posterior a esta clasificación de ciudades endémicas y no endémicas, se comparó la frecuencia global de infección (sin discriminar entre coinfecciones y monoinfecciones como se había hecho anteriormente), por alguno de los tres virus en las ciudades endémicas y no endémicas. Para esto se realizó una prueba de chi cuadrado y se encontró que para los DS de áreas endémicas la frecuencia de infección fue del 29.7% (IC 95% 24.2-35.6) y para los de áreas no endémicas fue del 16.3% (IC 95% 11.8-21.8) ( $p = 0.001$ ), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.005$ ). Ahora, teniendo en cuenta que para el cálculo del resultado anterior se comparó solo

la frecuencia de los arbovirus del estudio en general, es decir, considerando 1 como cualquier donante de zona endémica y no endémica que fue positivo para alguno de los arbovirus y 0 como cualquier donante de zona endémica o no endémica que fue negativo para alguno de los virus, se analizó además cuales virus habían influido en la diferencia de la frecuencia global de DSI de zonas endémicas y no endémicas. Para ello, se realizó también una prueba de chi cuadrado, pero comparando las frecuencias de cada arbovirus entre zonas endémicas y no endémicas; como resultado se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre DENV-1 (2.9% IC 1.2-5.8% en zona no endémica versus 8.9% IC 5.9-13.0%) y CHIKV (1.9% IC 0.7-4.5% en zona no endémica versus 12.2% IC 8.6-16.7%), mientras tanto, las frecuencias de los otros virus fueron similares entre áreas endémicas y no endémicas.

Finalmente, se analizó la frecuencia no solo entre las ciudades endémicas y no endémicas, sino también la frecuencia de cada virus en cada una de las ciudades, esto con el objetivo de identificar si las diferencias que se habían identificado en el chi cuadrado se mantenían o si por el contrario desaparecían; para esto, se realizaron comparaciones por columna utilizando una prueba z (post hoc) ( $p < 0.01$ ). Con esto se evidenció que en la prevalencia de infección con DENV-1 existían diferencias entre Bogotá y el resto de las cinco ciudades (Figura 13-A); para DENV-2 no se encontraron diferencias en ninguna de las seis ciudades (Figura 13-B), mientras que para ZIKV (Figura 13-C) y CHIKV (Figura 13-D) se encontraron diferencias entre Manizales, Cali, Medellín y Bogotá con respecto Armenia y Cartagena.



**Figura 13.** Comparación de la frecuencia de DSI con DENV-1, DENV-2, ZIKV Y CHIKV en las seis ciudades del estudio. Los resultados se expresan como prevalencia puntual (eje y) e intervalo de confianza al 95%.

## 7. Discusión

La actual epidemia de DENV en Latinoamérica registra el mayor número de casos de la historia, con cerca de 2'600.000 casos y 1.026 muertes reportadas (84). Particularmente en Colombia, durante la presente epidemia se registraron más de 150.000 casos acumulados hasta la fecha, siendo esta una de las peores epidemias de DENV registradas(60). Durante esta epidemia y por primera vez en Colombia, se detectó una alta prevalencia de DENV, ZIKV y CHIKV en donantes de sangre incluso en ciudades no endémicas (Bogotá y Manizales).

En Cartagena, ciudad en la que se identificó mayor prevalencia de DSI, se han reportado un total de 2.121 casos de DENV, y en la región Caribe (a la cual pertenece Cartagena ) más de 49.000 casos de DENV (60); este gran número de casos acumulados en la población de esta región sea quizá la razón por la que se encontró este número de casos de DSI en esta ciudad. Por otro lado, existen estudios que también han evidenciado una alta prevalencia en DS de estos arbovirus, por ejemplo un estudio transversal en Arabia Saudita, durante una epidemia de DENV reportó una prevalencia del 5% de este virus en DS (26), y para el caso de ZIKV, un estudio retrospectivo en Brasil durante la gran epidemia del 2016 reportó una prevalencia del 2.7% en DS (28)

Aunque los serotipos 2 y 1 de DENV fueron los más prevalentes, se identificó algunos DSI con los serotipos 3 y 4, por ende, la circulación actual de los cuatro serotipos en el país continúa siendo evidente, de hecho, en Colombia ya se ha reportado el análisis de pools de mosquitos en los que se detectan los cuatro serotipos de DENV, siendo DENV-2 el serotipo más predominante (50%), seguido por DENV-1 (35%) (85).

A pesar de que para CHIKV y ZIKV no se encuentra reportado un alto número de casos sintomáticos en el país, la confirmación molecular de la circulación de estos virus en DS

evidencia la posibilidad de que una proporción de los casos de DENV que fueron confirmados por clínica durante esta epidemia, pudieron atribuirse a casos de CHIKV o ZIKV y/o coinfecciones entre los tres virus. En este sentido, si bien es claro que síntomas clínicos inespecíficos como fiebre, dolor de cabeza, escalofríos, prurito, exantema, artralgias y mialgias son comunes entre los tres virus (86,87), existen otros síntomas que discriminan más la etiología de una infección por alguno de los tres arbovirus como el dolor en las articulaciones que se presenta en hasta en el 92% de los pacientes que cursan con una infección por CHIKV (88) y la conjuntivitis no purulenta en el caso de una infección por ZIKV(87). Interesantemente, en el presente estudio en el que se reportó ZIKV y CHIKV en DSI, se identificó conjuntivitis no purulenta en 4 (6.9%) DSIE que es un síntoma discriminatorio de una infección por ZIKV y en 8 (14%) DSIE se identificó dolor articular, que es un indicativo de infección por CHIKV. Adicionalmente, otros 6 (10.3%) DSIE manifestaron dolor en los ojos; respecto a esto, se postula que el dolor en los ojos pudo haber estado acompañado de conjuntivitis, pero el DSIE al no haber tenido una valoración médica en el momento, pudo haber omitido este síntoma.

Curiosamente, además de haber observado una prevalencia de DSI con DENV en las ciudades endémicas como Cartagena, se identificó también DSI con DENV en zonas no endémicas. Para identificar una relación a con estos casos de arbovirosis en ciudades no endémicas, se identificó que, en Bogotá, 6 de los 7 DSIE manifestaron haber estado en lugares endémicos, es decir, estos DSIE tenían un nexo epidemiológico. Expuesto esto, este tipo de casos podrían existir en tanto los DS se movilizan de áreas templadas no endémicas hacia áreas tropicales endémicas (en especial en época de fiestas culturales) en días previos a la donación; de hecho arbovirus como DENV son responsables de una elevada proporción de síndromes febriles agudos relacionados con los viajes (89).

Como evidencian los resultados, algunos de estos DS presentaron infecciones con más de un virus, inclusive se detectó un DSI con 4 virus coinfectantes. Estudios comprueban que mosquitos hembra de *Ae aegypti* pueden infectarse con DENV, ZIKV y CHIKV y transmitir estos virus simultáneamente(90); en Armenia se identificó en un DSI DENV-2, ZIKV y CHIKV, coinfección que ya ha sido reportada(90), no obstante, tampoco se descarta que estas coinfecciones se produzcan por la picadura simultanea de varios mosquitos que pueden estar circulando con distintos virus. Además, también se encontraron coinfecciones ya reportadas entre DENV y ZIKV como las vistas en la ciudad de Cali (91) y un reciente estudio realizado en la frontera Colombo-Venezolana que identificó coinfecciones arbovirales entre DENV, ZIKV y CHIKV(92) .

Ahora bien, adicional a la identificación molecular de estas infecciones arbovirales, la encuesta a los DSIE mostró el dolor de cabeza (38.9%) como el síntoma más frecuente, lo cual concuerda con otros estudios que reportan la presencia de este síntoma en hasta el 73% de los pacientes(93). Otros síntomas como el exantema (identificado como sarpullido en la encuesta), dolor en los huesos y dolor abdominal encontrados frecuentemente en infecciones arbovirales también fueron identificados(94). Para el caso de la fiebre, se considera que el total de DSIE que manifestaron este síntoma puede estar subestimado ya que en la mayoría de los casos el DSIE no tuvo una valoración cuantitativa de su temperatura, a pesar de esto, los resultados de la encuesta sugieren que la mayor parte de los DSIE cursaron la infección de una manera subclínica ya que una gran parte de los que no presentaron síndrome febril, presentaron algún otro síntoma, en lo que respecta a este porcentaje de pacientes subclínicos ya existen estudios en los que se evidencian proporciones similares de pacientes subclínicos (95,96) . La importancia de estos donantes que cursan con una infección subclínica radica en que estos pueden desarrollar altas viremias capaces

de infectar a mosquitos que pueden introducir estos virus en nuevas poblaciones (81); un ejemplo claro de esto serían los DS que se movilizaron de áreas no endémicas a endémicas y se infectaron; de hecho, en Colombia se encuentra reportada la presencia de mosquitos *Ae aegypti* a 2.300 metros sobre el nivel del mar (m s.n.m)(83), altura superior a la de algunas ciudades no endémicas como Manizales. Además de esto, estas personas que cursan una infección arboviral de manera subclínica o asintomática, que generalmente son infecciones primarias(97), pueden desarrollar inmunidad protectora cruzada, por un periodo corto de tiempo, posteriormente las infecciones secundarias que puedan desarrollar estas personas pueden ser más severas que la primera infección(98) por fenómenos ampliamente descritos como la amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (99,100).

Algo que se resalta es que, en el momento de realizar las encuestas, se identificó un DSI con CHIKV que manifestó haber presentado dolor en las articulaciones y adicionalmente, manifestó que ya había presentado esta infección por CHIKV tiempo atrás (datos no mostrados). Aunque hasta el momento no se encuentran reportadas reinfecciones con CHIKV (101,102), no se detectó que puedan existir infecciones no sensibilizantes para el sistema inmune, y por ende cuando una persona se vuelva a infectar pueda haber una patología. Se postula esta hipótesis con base en estudios realizados recientemente en Colombia en los que se identifican que las cepas de CHIKV que circulan en el territorio son de origen asiático, sin embargo, existen subclados filogenéticos independientes entre estas que muestran mutaciones en las proteínas nsP2, nsP3 y C que pueden tener consecuencias en la patogénesis de esta infección (103).

Enfatizando el tema de las infecciones secundarias, es claro que estas infecciones secundarias heterotípicas son el mayor factor de riesgo para el desarrollo de una infección severa con DENV(104), y aunque pueden existir infecciones primarias en las que se evidencia severidad de

la enfermedad, no es lo más frecuente, por lo general las infecciones primarias por FD se desenvuelven de una manera leve(105). En este sentido, para tratar de identificar los DSIE con dengue que pudieron haber desarrollado severidad en el curso de la FD, se incluyó en la encuesta el dolor abdominal, ya que este es sugestivo de una complicación en la FD(80). Como se muestra en los resultados, solo 3 (5.2%) DSIE con DENV presentaron dolor abdominal, resultado que es plausible en nuestro grupo de DSIE ya que la mayoría nunca había presentado infección sintomática por DENV.

Algo que llamó la atención de este estudio es que DENV-2 no exhibió diferencias significativas en ninguna ciudad, basados en dichos resultados, aquí se postula que DENV-2 se pueda estar adaptando mejor al vector que otros serotipos de DENV e inclusive que CHIKV y ZIKV, de hecho, ya se encuentran reportes en los que se evidencia que particularmente las infecciones por DENV-2 en mosquitos *Ae. albopictus* modulan la expresión de genes sensibles en la inmunidad contra el DENV(106). En el caso de Colombia, ya se encuentra reportada la circulación de mosquitos *Ae. Albopictus* infectados naturalmente con DENV-2 (cepa asiático-americana), teniendo en cuenta esto y que los mosquitos *Ae. Albopictus* puede sobrevivir a latitudes más altas que los mosquitos de *Ae. Aegypti*(107), es plausible pensar en que puedan estar circulando mosquitos infectados con DENV-2 de *Ae. Albopictus* en ciudades que se consideran no endémicas, como Manizales que se encuentra a 2.200 msnm, solo 216 msnm por debajo de la ciudad con mayor altura en la que se ha registrado la circulación de mosquitos infectados con DENV (83).

## 8. Conclusiones.

Los datos obtenidos de la población de estudio indicaron una proporción similar de hombres (53.7%) y mujeres (46.3%) y un promedio de edad de 36.9 años. la mayor parte de los DSIE fueron O y A positivo. De estos, todos donaron glóbulos rojos, alrededor del 50% donó plasma fresco congelado y solo una cuarta parte donó plaquetas y/o crioprecipitados

Durante esta epidemia de DENV en Colombia, los resultados sugieren que Cartagena y Armenia son las ciudades en donde más se pueden encontrar DSI; adicionalmente, se encontró que arbovirus como el DENV, ZIKV y CHIKV circulan en ciudades tanto endémicas como no endémicas.

Para el caso de DENV, todos los serotipos (DENV-1 a DENV-4) se encuentran circulando actualmente en el territorio nacional, siendo los serotipos dos y uno los mas prevalentes.

Por otro lado, las coinfecciones que estos arbovirus se evidencian inclusive en áreas no endémicas, probablemente porque estas áreas no endémicas se encuentren a distancias cortas de lugares que son hiperendémicos y los DS que residen en estas áreas no endémicas se movilizan a estos lugares endémicos por periodos cortos en los que pueden ser inoculados con el virus por parte del vector, sin embargo, otra hipótesis estaría en la posibilidad de que vectores de estos arbovirus como el mosquito *Ae. Albopictus* puedan ya estar circulando y trasmitiendo el virus en lugares que antes se consideraban no endémicos como Manizales.

El, 44.82% de los DSIE cursaron la infección de una manera subclínica, en el caso de DENV esto es importante en tanto estas personas pueden desarrollar una inmunidad a corto plazo contra otros serotipos que pueda contribuir a una infección más severa durante una reinfección por otro serotipo a largo plazo. Por otro lado, estos pacientes subclínicos y asintomáticos pueden ocupar un rol clave en la introducción de estos virus en áreas vírgenes para estos arbovirus, ya que pueden desarrollar viremias lo suficientemente altas como para infectar a los mosquitos.

Para el caso de CHIKV, podrían existir infecciones no sensibilizantes para el sistema inmune que puedan ocasionar una reinfección posterior.

La prueba de chi cuadrado permitió identificar la existencia de una diferencia significativa en la circulación de estos arbovirus entre zonas endémicas y no endémicas, más específicamente, al comparar los virus por separado, se identificó que esta diferencia de arbovirus entre ciudades endémicas y no endémicas está dada por las diferencias entre DENV-1 y CHIKV.

La prueba z permitió evidenciar arbovirus como DENV-2 en los que no se encontró diferencias significativas en la frecuencia entre ninguna de las áreas endémicas y no endémicas, este resultado pudo estar atribuido a una alta circulación de este serotipo en las áreas endémicas cercanas a las zonas no endémicas, no obstante, no se descarta la posibilidad de que DENV-2 se pueda adaptar mejor al vector que los otros arbovirus en lugares semi templados que se encuentren en alturas relativamente altas.

Finalmente, se evidencia la necesidad de implementar políticas de salud pública para implementar el tamizaje de DENV y otros arbovirus en zonas endémicas y no endémicas, en especial en tiempos de epidemia como el que cursamos actualmente.

## 9. Recomendaciones

En el análisis de la prevalencia total de ZIKV en lo corrido del estudio, se encontró una aparición de 11 DSI con ZIKV en las últimas tres semanas de recolección de muestras del estudio en una de las ciudades no endémicas (Manizales) y en ciudades endémicas como Cali y Medellín, justo después de las fiestas culturales de fin de año que se realizan en Colombia. Se sugiere que la aparición de brotes de estos arbovirus se podría predecir realizando este tipo de seguimientos (obtención de una muestra y detección del virus) en DS asintomáticos y con esto se podrían realizar controles vectoriales anticipados a la aparición de un mayor número de casos en esa zona.

Se necesitan más estudios para confirmar una posible circulación del vector (*Ae. Albopictus* especialmente) de estos arbovirus en áreas no endémicas como Manizales, en las que, si bien se encuentran a alturas superiores a las arenas que se han reportado vectores capaces de transmitir el virus, se reportaron DSI. Si bien estos DSI pudieron haberse infectado en viajes cortos a zonas endémicas de la región, no se debe descartar la posibilidad de que ya exista una transmisión autóctona en estos lugares, en especial de DENV-2 en el cual no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de ninguna ciudad.

Se sugiere una implementación de políticas de salud pública que prevengan que estos hemocomponentes infectados se transfundan a receptores; se resalta que en nuestro caso ningún componente fue transfundido ya que todas las unidades de DS pertenecientes al estudio fueron

puestas en cuarentena mientras se descartaba la presencia de estos arbovirus en estas. Una de estas medidas podría estar dirigida a la inclusión de estos arbovirus en el tamizaje de enfermedades infecciosas que se realizan de rutina a los donantes de sangre al menos durante los periodos de epidemia; otra medida adoptada por otros países para estos casos consiste en poner en cuarentena todas las unidades por un plazo de hasta 5 días en el que el DS no reporte ningún síntoma compatible con arbovirosis (108), sin embargo, cuando hay escasez de componentes sanguíneos estas cuarentenas no se pueden cumplir en la mayoría de los bancos de sangre, por ende, otra solución prometedora podría estar en la aplicación de métodos para la reducción de patógenos en los componentes sanguíneos.

aunque la estabilidad de los viriones maduros de estos arbovirus pueda afectarse a bajas temperaturas como las usadas para almacenar los componentes sanguíneos, ya se encuentran reportados casos de estos virus transmitidos por transfusión sanguínea, el paso a seguir podría estar enfocado en realizar un seguimiento a los receptores de estas unidades infectadas en Colombia. Por ahora, el presente fue el primer estudio en Colombia en reportar prevalencia de estos arbovirus en DS que realizaron su donación en bancos de sangre de zonas endémicas y no endémicas.

## 10. Referencias

1. Padilla JC, Lizarazo FE, Murillo OL, Mendigaña FA, Pachón E, Vera MJ. Epidemiología de las principales enfermedades transmitidas por vectores en Colombia , 1990-2016. *Biomédica*. 2017;37(2):27–40.
2. Instituto Nacional de Salud. Informe evento dengue en Colombia a periodo epidemiológico XIII-2018 [Internet]. Bogotá D.C. 2018 [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Dengue.aspx>
3. Instituto Nacional de Salud. Informe evento enfermedad por virus Zika, Colombia a periodo epidemiológico XIII-2018 [Internet]. Bogotá D.C. 2018 2018 [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en : <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/SitePages/Evento.aspx?Event=1>
4. Instituto Nacional de Salud. Informe evento chikungunya, Colombia a periodo epidemiológico XIII-2018 [Internet]. Bogotá D.C. 2018. [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/SitePages/Evento.aspx?Event=2>
5. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;496(7446):504–7.
6. Slavov SN, Cilião-Alves DC, Gonzaga FAC, Moura DR, de Moura ACAM, de Noronha

- LAG, et al. Dengue seroprevalence among asymptomatic blood donors during an epidemic outbreak in Central-West Brazil. *PLoS One*. 2019 Mar 1;14(3).
7. Aubry M, Teissier A, Huart M, Merceron S, Vanhomwegen J, Roche C, et al. Zika Virus Seroprevalence, French Polynesia, 2014-2015. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(4):669–72.
  8. Mascarenhas M, Garasia S, Berthiaume P, Corrin T, Greig J, Ng V, et al. A scoping review of published literature on chikungunya virus. *PLoS One*. 2018;13(11):e0207554
  9. Wang TT, Sewatanon J, Memoli MJ, Wrammert J, Bournazos S, Bhaumik SK, et al. IgG antibodies to dengue enhanced for Fc $\gamma$ RIIIA binding determine disease severity. *Science*. 2017;355(6323):395–8.
  10. Delgado FG, Torres KI, Castellanos JE, Romero-Sánchez C, Simon-Lorière E, Sakuntabhai A, et al. Improved Immune Responses Against Zika Virus After Sequential Dengue and Zika Virus Infection in Humans. *Viruses*. 2018;10(9): pii: E480.
  11. Lum FM, Couderc T, Chia BS, Ong RY, Her Z, Chow A, et al. Antibody-mediated enhancement aggravates chikungunya virus infection and disease severity. *Sci Rep*. 2018;8(1).
  12. Tambyah PA, Koay ES, Poon ML, Lin RV, Ong BK. Dengue hemorrhagic fever transmitted by blood transfusion. *New England Journal of Medicine*. 2008;359:1526–7.
  13. Oh HB, Muthu V, Daruwalla ZJ, Lee SY, Koay ES, Tambyah PA. Bitten by a bug or a bag? Transfusion-transmitted dengue: a rare complication in the bleeding surgical patient. *Transfusion*. 2015;55(7):1655–61.
  14. Gallian P, de Lamballerie X, Salez N, Piorkowski G, Richard P, Patureau L, et al.

- Prospective detection of chikungunya virus in blood donors, Caribbean 2014. *Blood*. 2014;123(23):3679–81.
15. Barjas-Castro ML, Angerami RN, Cunha MS, Suzuki A, Nogueira JS, Rocco IM, et al. Probable transfusion-transmitted Zika virus in Brazil. *Transfusion*. 2016;56(7):1684–8.
  16. Linnen JM, Vinelli E, Sabino EC, Tobler LH, Hyland C, Lee T-H, et al. Dengue viremia in blood donors from Honduras, Brazil, and Australia. *Transfusion*. 2008;48(7):1355–62.
  17. Chuang VWM, Wong TY, Leung YH, Ma ESK, Law YL, Tsang OTY, et al. Review of dengue fever cases in Hong Kong during 1998 to 2005. *Hong Kong Med J*. 2008;14(3):170–7.
  18. Levi JE, Nishiya A, Félix AC, Salles NA, Sampaio LR, Hangai F, et al. Real-time symptomatic case of transfusion-transmitted dengue. *Transfusion*. 2015 May 1;55(5):961–4.
  19. Sabino EC, Loureiro P, Esther Lopes M, Capuani L, McClure C, Chowdhury D, et al. Transfusion-transmitted dengue and associated clinical symptoms during the 2012 epidemic in Brazil. *J Infect Dis*. 2015;212(11):694–702.
  20. Karim F, Nasir N, Moiz B. Transfusion transmitted dengue: One donor infects two patients. *Transfus Apher Sci*. 2017;56(2):151–3.
  21. Stramer SL. Current perspectives in transfusion-transmitted infectious diseases: emerging and re-emerging infections. *ISBT Sci Ser*. 2014;9(1):30–6.
  22. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, Kleinman S, Metzger PS, Gregory KR, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety:

- Transfusion. 2009;49( 2):1-29.
23. Chusri S, Siripaitoon P, Silpapojakul K, Hortiwakul T, Charernmak B, Chinnawirotpisan P, et al. Kinetics of chikungunya infections during an outbreak in Southern Thailand, 2008-2009. *Am J Trop Med Hyg* . 2014;90(3):410–7.
  24. Magnus MM, Espósito DLA, Costa VA da, Melo PS de, Costa-Lima C, Fonseca BAL da, et al. Risk of Zika virus transmission by blood donations in Brazil. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2018;40(3):250–4.
  25. Stramer SL, Linnen JM, Carrick JM, Foster GA, Krysztof DE, Zou S, et al. Dengue viremia in blood donors identified by RNA and detection of dengue transfusion transmission during the 2007 dengue outbreak in Puerto Rico. *Transfusion*. 2012;52(8):1657–66.
  26. Ashshi AM. The prevalence of dengue virus serotypes in asymptomatic blood donors reveals the emergence of serotype 4 in Saudi Arabia. *Virol J*. 2017 Jun 9;14(1).
  27. Williamson PC, Linnen JM, Kessler DA, Shaz BH, Kamel H, Vassallo RR, et al. First cases of Zika virus-infected US blood donors outside states with areas of active transmission. *Transfusion*. 2017;57(2):770–8.
  28. Slavov SN, Hespanhol MR, Rodrigues ES, Levi JE, Ubiali EMA, Covas DT, et al. Zika virus RNA detection in asymptomatic blood donors during an outbreak in the northeast region of São Paulo State, Brazil, 2016. *Transfusion*. 2017;57(12):2897–901.
  29. Slavov SN, Otaguiri KK, Bianchini ML, Bitencourt HTO, Chagas MCM, Guerreiro DS de S, et al. Seroprevalence of Chikungunya virus in blood donors from Northern and

- Southeastern Brazil. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2018 Oct 1;40(4):358–62.
30. Davis LE, Beckham JD, Tyler KL. North American Encephalitic Arboviruses. *Neurologic Clinics.* 2008;26:727-57.
  31. Baltimore D. Expression of animal virus genomes. *Bacteriol Rev.* 1971;35(3):235–41.
  32. Lindenbach BD, Thiel H-J, Rice CM. *Fields Virology.* 5th Editio. Lippincott-Raven Publishers, editor. Philadelphia; 2007. 3177 p.
  33. Qiu J, Shang Y, Ji Z, Qiu T. In-silico Antigenicity Determination and Clustering of Dengue Virus Serotypes. *Front Genet.* 2018;7:9.
  34. Diamond MS, Pierson TC. Molecular Insight into Dengue Virus Pathogenesis and Its Implications for Disease Control. Vol. 162, *Cell.* Cell Press; 2015. p. 488–92.
  35. Cardoso J, Ooi MH, Tio PH, Perera D, Holmes EC, Bibi K, et al. Dengue virus serotype 2 from a sylvatic lineage isolated from a patient with dengue hemorrhagic fever. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(4):e423.
  36. Perera R, Kuhn RJ. Structural proteomics of dengue virus. Vol. 11, *Current Opinion in Microbiology.* 2008. p. 369–77.
  37. Organización mundial de la salud. *Dengue: Pautas para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control.* Ginebra. 2009. p. 10–2.
  38. Spiropoulou CF, Srikiatkachorn A. The role of endothelial activation in dengue hemorrhagic fever and hantavirus pulmonary syndrome. *Virulence.* 2013;4(6):525-536
  39. Srikiatkachorn A, Green S. Markers of dengue disease severity. *Curr Top Microbiol*

- Immunol. 2010;338:67–82.
40. Lin C-F, Lei H-Y, Shiau A-L, Liu C-C, Liu H-S, Yeh T-M, et al. Antibodies from dengue patient sera cross-react with endothelial cells and induce damage. *J Med Virol.* 2003;69(1):82–90.
  41. Chaturvedi UC, Agarwal R, Elbishbishi EA, Mustafa AS. Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *Immunol Med Microbiol.*
  42. Vicente CR, Herbinger KH, Fröschl G, Romano CM, Cabidelle A de SA, Junior CC. Serotype influences on dengue severity: A cross-sectional study on 485 confirmed dengue cases in Vitória, Brazil. *BMC Infect Dis.* 2016;16(1).
  43. Kurane I, Innis BL, Nimmannitya S, Nisalak A, Meager A, Janus J, et al. Activation of T lymphocytes in dengue virus infections. High levels of soluble interleukin 2 receptor, soluble CD4, soluble CD8, interleukin 2, and interferon-gamma in sera of children with dengue. *J Clin Invest.* 1991;88(5):1473–80.
  44. García G, Sierra B, Pérez AB, Aguirre E, Rosado I, Gonzalez N, et al. Asymptomatic dengue infection in a cuban population confirms the protective role of the RR variant of the Fc $\gamma$ RIIIa polymorphism. *Am J Trop Med Hyg.* 2010 Jun;82(6):1153–6.
  45. Wang TT, Sewatanon J, Memoli MJ, Wrammert J, Bournazos S, Bhaumik SK, et al. IgG antibodies to dengue enhanced for Fc $\gamma$ RIIIA binding determine disease severity. *Science.* 2017;355(6323):395–8.
  46. Lin H-H, Yip B-S, Huang L-M, Wu S-C. Zika virus structural biology and progress in vaccine development. *Biotechnol Adv.* 2019;36(1):47–53.

47. Krauer F, Riesen M, Reveiz L, Oladapo OT, Martínez-Vega R, Porgo T V, et al. Zika Virus Infection as a Cause of Congenital Brain Abnormalities and Guillain–Barré Syndrome: Systematic Review. *PLoS Med.* 2017;14(1):e1002203.
48. Leviton A, Holmes LB, Allred EN, Vargas J. Methodologic issues in epidemiologic studies of congenital microcephaly. *Early Hum Dev.* 2002;69(1–2):91–105.
49. Miner JJ, Cao B, Govero J, Smith AM, Fernandez E, Cabrera OH, et al. Zika Virus Infection during Pregnancy in Mice Causes Placental Damage and Fetal Demise. *Cell.* 2016;165(5):1081–91.
50. Woods CG, Bond J, Enard W. Autosomal recessive primary microcephaly (MCPH): A review of clinical, molecular, and evolutionary findings. *American Journal of Human Genetics.* 2005;76:717-28.
51. Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, Pessoa A, Ventura C V., Da Fonseca EB, et al. Characterizing the pattern of anomalies in congenital zika syndrome for pediatric clinicians. *JAMA Pediatrics.* 2017;171:288-95
52. Kuhn R. *Togaviridae.* Fields Virology. 5 ed. Philadelphia: Editorial Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 1101-52.
53. Roberston M. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. II. General description and epidemiology. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1955;49:33–57.
54. Borgherini G, Poubeau P, Staikowsky F, Lory M, Moullec NL, Becquart JP, et al. Outbreak of Chikungunya on Reunion Island: Early Clinical and Laboratory Features in

- 157 Adult Patients. *Clin Infect Dis*. 2007;44(11):1401–7.
55. Fourie ED, Morrison JG. Rheumatoid arthritic syndrome after chikungunya fever. *S Afr Med J* . 1979;56(4):130–2.
56. Sun S, Xiang Y, Akahata W, Holdaway H, Pal P, Zhang X, et al. Structural analyses at pseudo atomic resolution of Chikungunya virus and antibodies show mechanisms of neutralization. *Elife*. 2013 Feb 18;2013(2):e00435.
57. Sirohi D, Chen Z, Sun L, Klose T, Pierson TC, Rossmann MG, et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. *Science* (80- ). 2016 Apr 22;352(6284):467–70.
58. Zhang X, Ge P, Yu X, Brannan JM, Bi G, Zhang Q, et al. Cryo-EM structure of the mature dengue virus at 3.5-Å resolution. *Nat Struct Mol Biol*. 2013 Jan;20(1):105–10.
59. Instituto Nacional de Salud. Informe evento dengue en Colombia a periodo epidemiológico XIII-2019 [Internet]. Bogotá D.C. 2019 [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Dengue.aspx>
60. Instituto Nacional de Salud. Informe evento dengue en Colombia 2020 [Internet]. Bogotá D.C. 2020 [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Dengue.aspx>
61. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. Vol. 21, *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2015. p. 1885–6.
62. Camacho E, Paternina-Gomez M, Blanco PJ, Osorio JE, Aliota MT. Detection of autochthonous zika virus transmission in Sincelejo, Colombia. Vol. 22, *Emerging*

- Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2016. p. 927–9.
63. Instituto Nacional de Salud. Informe evento enfermedad por virus Zika, Colombia a periodo epidemiológico XIII-2019 [Internet]. Bogotá D.C. 2019 [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en : <https://www.ins.gov.co/buscador/Eventos/SitePages/Evento.aspx?Event=1>
  64. World Health Organization. Zika virus infection , Cape Verde. WHO. 2015
  65. Cao-Lormeau V-M, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry A-L, Mallet H-P, et al. Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(6):1085–6.
  66. Petersen LR, Powers AM. Chikungunya: *Epidemiology.* Vol. 5, F1000Research. Faculty of 1000 Ltd; 2016;5.
  67. Panamerican Health Organization, World Health Organization. Chikungunya Data, Maps and Statistics [Internet]. citado 20 feberero 2020 . Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=rdmore&cid=5927&item=chikungunya&type=statistics&Itemid=40931&lang=en](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rdmore&cid=5927&item=chikungunya&type=statistics&Itemid=40931&lang=en)
  68. Instituto Nacional de Salud. Informe evento enfermedad por virus Chikungunya, Colombia a periodo epidemiológico XIII-2019 [Internet]. Bogotá D.C. 2019 [citado el 15 de febrero de 2020]. Disponible en : <https://www.ins.gov.co/buscador/Eventos/SitePages/Evento.aspx?Event=1>
  69. Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sanguinis.* 2010;98:495-503.
  70. American Association Of Blood Banks. American Association Of Blood Banks AABB.

- 18th ed. American Association Of Blood Banks, editor. Bethesda, Maryland; 2018. 1107 p.
71. Ly S, Fortas C, Duong V, Benmarhnia T, Sakuntabhai A, Paul R, et al. Asymptomatic Dengue Virus Infections, Cambodia, 2012-2013. *Emerg Infect Dis.* 2019;25(7):1354–62.
  72. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *J Infect Dis.* 1997;176(2):322–30.
  73. Schul W, Liu W, Xu H, Flamand M, Vasudevan SG. A Dengue Fever Viremia Model in Mice Shows Reduction in Viral Replication and Suppression of the Inflammatory Response after Treatment with Antiviral Drugs. *J Infect Dis.* 2007;195(5):665–74.
  74. Lwande OW, Obanda V, Lindström A, Ahlm C, Evander M, Näslund J, et al. Globe-Trotting *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* : Risk Factors for Arbovirus Pandemics. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2020;2:71-81
  75. Goncalves A, Peeling RW, Chu MC, Gubler DJ, de Silva AM, Harris E, et al. Innovative and New Approaches to Laboratory Diagnosis of Zika and Dengue: A Meeting Report. *J Infect Dis.* 2018;217(7):1060–8.
  76. Instituto Nacional de Salud. Red Nacional de Bancos de Sangre, Directorio de Bancos de Sangre vs Donantes aceptados. Bogotá D.C. 2019. p. 11p.
  77. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Panella AJ, Velez JO, Lambert AJ, et al. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2006;13(5):764–7.
  78. Chien LJ, Liao TL, Shu PY, Huang JH, Gubler DJ, Chang GJJ. Development of real-time

- reverse transcriptase PCR assays to detect and serotype dengue viruses. *J Clin Microbiol.* 2006 Apr;44(4):1295–304.
79. Calvo EP, Sánchez-Quete F, Durán S, Sandoval I, Castellanos JE. Easy and inexpensive molecular detection of dengue, chikungunya and zika viruses in febrile patients. *Acta Trop.* 2016 Nov 1;163:32–7.
80. OMS | Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. WHO. 2017;
81. Grange L, Simon-Loriere E, Sakuntabhai A, Gresh L, Paul R, Harris E. Epidemiological risk factors associated with high global frequency of inapparent dengue virus infections. *Frontiers in Immunology.* 2014;5:280.
82. Swaminathan S, Khanna N, Herring B, Mahalingam S. Dengue vaccine efficacy trial: Does interference cause failure?. *The Lancet Infectious Diseases.* 2013;13:191-2.
83. Ruiz-López F, González-Mazo A, Vélez-Mira A, Gómez GF, Zuleta L, Uribe S, et al. Presencia de *Aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) y su infección natural con el virus del dengue en alturas no registradas para Colombia. *Biomedica.* 2016;36(2):303–8.
84. Panamerican Health Organization .Actualización Epidemiológica [Internet]. citado 2020 Febero 20. Disponible en: <https://bit.ly/2Pes0li>.
85. Pérez-Castro R, Castellanos JE, Olano VA, Matiz MI, Jaramillo JF, Vargas SL, et al. Detection of all four dengue serotypes in *Aedes aegypti* female mosquitoes collected in a rural area in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2016 Apr 1;111(4):233–40.
86. Beckham JD, Tyler KL. Arbovirus Infections. *Lifelong Learning in Neurology.*

- 2015;21:1599-611.
87. Patterson J, Sammon M, Garg M. Dengue, zika and chikungunya: Emerging arboviruses in the new world. Vol. 17, *Western Journal of Emergency Medicine*. eScholarship; 2016. p. 671–9.
  88. Thiberville SD, Moyen N, Dupuis-Maguiraga L, Nougairede A, Gould EA, Roques P, et al. Chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. , *Antiviral Research*.2013;99:345-70.
  89. Marques-Toledo CA, Bendati MM, Codeço CT, Teixeira MM. Probability of dengue transmission and propagation in a non-endemic temperate area: Conceptual model and decision risk levels for early alert, prevention and control. *Parasites and Vectors*. 2019 Jan 16;12(1).
  90. Rückert C, Weger-Lucarelli J, Garcia-Luna SM, Young MC, Byas AD, Murrieta RA, et al. Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. *Nat Commun*. 2017 May 19;8.
  91. Chaves BA, Orfano AS, Nogueira PM, et al. Coinfection with Zika Virus (ZIKV) and Dengue Virus Results in Preferential ZIKV Transmission by Vector Bite to Vertebrate Host. *J Infect Dis*. 2018;218(4):563- 571.
  92. Carrillo-Hernández MY, Ruiz-Saenz J, Villamizar LJ, Gómez-Rangel SY, Martínez-Gutierrez M. Co-circulation and simultaneous co-infection of dengue, chikungunya, and zika viruses in patients with febrile syndrome at the Colombian-Venezuelan border. *BMC Infect Dis*. 2018 Jan 30;18(1).

93. Vieira DS, Zambenedetti MR, Requião L, Borghetti IA, Luna LKDS, Santos ADO Dos, et al. Epidemiological profile of zika, dengue and chikungunya virus infections identified by medical and molecular evaluations in Rondonia, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2019;61.
94. Martinez JD, Garza JAC de la, Cuellar-Barboza A. Going Viral 2019: Zika, Chikungunya, and Dengue. Vol. 37, *Dermatologic Clinics*. W.B. Saunders; 2019. p. 95–105.
95. Waterman SH, Novak RJ, Sather GE, Bailey RE, Rios I, Gubler DJ. Dengue transmission in two Puerto Rican communities in 1982. *Am J Trop Med Hyg*. 1985;34(3):625–32.
96. Reyes M, Mercado JC, Standish K, Matute JC, Ortega O, Moraga B, et al. Index cluster study of dengue virus infection in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg*. 2010 Sep;83(3):683–9.
97. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: A continuing global threat. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(12):S7–16.
98. Vaughn DW. Invited commentary: Dengue lessons from Cuba. *Am J Epidemiol*. 2000;152(9):800–3.
99. Sangkawibha N, Rojanasuphot S, Ahandrik S, Viriyapongse S, Jatanasen S, Salitul V. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. I. The 1980 outbreak - Wikidata [Internet]. [cited 2020 Mar 17]. Available from: <https://www.wikidata.org/wiki/Q29619424>
100. Cáceres Munar BA, Castellanos Parra JE, Rodríguez Panduro MH. Antibody-dependent enhancement in the immunopathogenesis of severe dengue, implications for the

- development and use of vaccines. *Acta Biologica Colombiana*. 2019;24:439-51
101. Erasmus JH, Rossi SL, Weaver SC. Development of Vaccines for Chikungunya Fever. *J Infect Dis* [Internet]. 2016 Dec 15 [cited 2020 Mar 28];214(suppl 5):S488–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27920179>
  102. Weaver SC, Lecuit M. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease [Internet]. Vol. 372, *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society; 2015 [cited 2020 Mar 28]. p. 1231–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25806915>
  103. Villero-Wolf Y, Mattar S, Puerta-González A, Arrieta G, Muskus C, Hoyos R, et al. Genomic epidemiology of Chikungunya virus in Colombia reveals genetic variability of strains and multiple geographic introductions in outbreak, 2014. *Sci Rep*. 2019 Dec 1;9(1).
  104. Wang TT, Sewatanon J, Memoli MJ, Wrammert J, Bournazos S, Bhaumik SK, et al. IgG antibodies to dengue enhanced for Fc $\gamma$ RIIIa binding determine disease severity. *Science*. 2017;355(6323):395–8.
  105. Thein S, Aung MM, Shwe TN, Aye M, Zaw A, Aye K, et al. Risk factors in dengue shock syndrome. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;56(5):566–72.
  106. Tsujimoto H, Hanley KA, Sundararajan A, Devitt NP, Schilkey FD, Hansen IA. Dengue virus serotype 2 infection alters midgut and carcass gene expression in the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*. *PLoS One*. 2017 Feb 1;12(2).
  107. Kraemer MUG, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQN, Shearer FM, Barker CM, et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *Elife*. 2015

Jun 30;4(JUNE2015).

108. Pierelli L, Vacca M, Zini G, Maresca M, Menichella G, Santinelli S, et al. Emergency response of four transfusion centers during the last Chikungunya outbreak in Italy. *Transfusion*. 2018;58(12):3027–30.

## **11. Anexos**

**Anexo 1. Encuesta realizada a los DSI por vía telefónica.**

**Asesoría post-test (telefónica o personal) a donantes que resulten positivos para dengue, Zika o Chikungunya (Universidad El Bosque y Cruz Roja Colombiana).**

**El siguiente párrafo deberá ser mencionado por el funcionario de la Cruz Roja durante la llamada**

**telefónica al donante:**

Usted donó sangre en nuestro banco de sangre hace unos días y aceptó participar en un estudio para determinar la frecuencia de virus dengue, Zika y Chikungunya en donantes de sangre en Colombia.

Por lo anterior, hemos realizado pruebas para estos virus en una muestra de su sangre, y se obtuvo un resultado positivo para el virus \_\_\_\_\_.

Estos virus se transmiten a través de las picaduras de mosquitos infectados. En caso de tratarse de virus dengue o Chikungunya, esto no representa en este momento riesgo para su salud. Sin embargo, para evitar la transmisión de estos virus a través de la sangre, es recomendable no donar sangre en los 15 días siguientes de haber regresado de una zona de transmisión de estos virus, y le recomendamos tomar medidas de protección contra las picaduras de mosquitos.

En caso de tratarse de virus Zika, además de que puede ser transmitido por la picadura de mosquitos infectados, también se puede transmitir por vía sexual. Cuando una mujer embarazada se infecta por cualesquiera de estas vías, puede transmitir el virus al fruto de la gestación y hay riesgo de malformaciones en el feto.

El periodo de riesgo de transmitir el virus a otra persona de manera directa a través de contacto sexual o de manera indirecta a través de la picadura de un mosquito puede ser de hasta 120 días.

Por esto es muy importante que usted considere si en su caso, esta situación puede presentarse. ¿Por favor, podría tomarse un momento para pensarlo y luego podría indicarme si esta situación puede presentarse en su caso?

En caso de una respuesta positiva, debe indicarse que la mujer gestante en riesgo potencial debe consultar a su servicio médico y manifestar que puede estar en riesgo de haber contraído virus Zika para su diagnóstico y manejo.

Para evitar la transmisión del virus Zika por vía sexual se recomienda abstención o relaciones sexuales con condón por 3 meses y evitar un embarazo en las 8 semanas siguientes a la fecha en que el virus fue detectado.

Adicionalmente, hay que informar que, debido a la positividad para virus Zika, se tomarán con el donante las siguientes acciones:

1. Serán diferidos para donar sangre por 120 días.
2. Los componentes sanguíneos obtenidos de su donación serán descartados.
3. Si alguno de los componentes sanguíneos obtenidos durante su donación fue transfundido, el servicio transfusional y el médico tratante que ordenó la transfusión serán contactados por parte del banco de sangre para informar del resultado positivo para virus Zika, para que se realice la respectiva investigación en el receptor de la transfusión, con especial énfasis en mujeres gestantes dado el riesgo de malformaciones graves en el feto.

La información sobre el resultado de estas pruebas para virus dengue, Zika y Chikungunya serán informadas al sistema nacional de hemovigilancia del Instituto Nacional de Salud (SIHEVI), como parte del protocolo de vigilancia de donantes de sangre.

Adicionalmente, teniendo en cuenta los resultados obtenidos y para fines del proyecto de investigación, es necesario conocer si Usted presentó o ha presentado algún síntoma que pueda estar relacionado con los virus del dengue, zika o Chikungunya, después de haber donado sangre.

La información se relaciona únicamente con estos virus y no con los marcadores de infecciosas que normalmente se realizan en la sangre donada, los cuales, a propósito, resultaron normales en su caso.

Esto nos tomará aproximadamente 5 minutos de su tiempo, ¿acepta Usted responder esta pregunta?

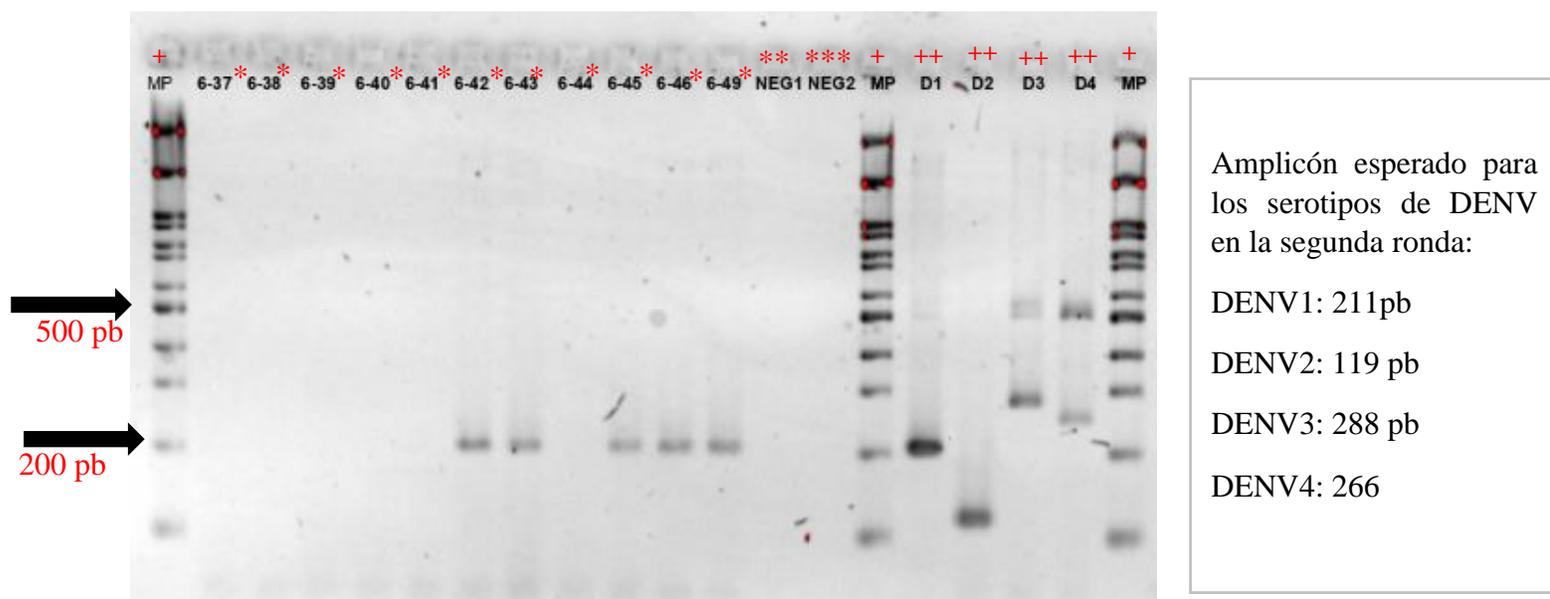
**Cuestionario (para ser aplicado personal o telefónicamente) a los donantes de sangre que resulten positivos para dengue, Zika o Chikungunya (Universidad El Bosque y Cruz Roja Colombiana)**

11. ¿Ha visitado un lugar distinto a su ciudad de residencia en los últimos tres meses?
12. ¿Qué lugar visitó en los últimos tres meses?
13. ¿Ha tenido fiebre o escalofríos en los últimos 15 días?
14. ¿Ha tenido alguno de los siguientes síntomas en los últimos 15 días?
  - \*Malestar General
  - \*Dolor de Cabeza
  - \*Dolor de Ojos
  - \*Dolor de huesos
  - \*Dolor abdominal
  - \*Brote o sarpullido
  - \*Conjuntivitis
  - \*Dolor en las articulaciones
  - \*Ninguno de los anteriores
15. ¿Ha tenido infección por virus Zika alguna vez en su vida? (si responde No, pasar a la pregunta 17)
16. Si respondió afirmativamente la anterior pregunta, ¿hace cuántos meses tuvo infección por virus Zika?
17. ¿Ha tenido infección por el virus Chikungunya alguna vez en su vida?
18. Si respondió afirmativamente la anterior pregunta, ¿hace cuántos meses tuvo infección por virus Chikungunya?
19. ¿Ha tenido dengue alguna vez en su vida?
20. Si respondió afirmativamente la pregunta anterior, ¿cuántas veces se ha enfermado de dengue en su vida?
21. ¿Hace cuánto fue el episodio más reciente de dengue?
22. ¿Cómo se enteró de que tenía dengue?

23. ¿Alguna persona con las que usted convive actualmente, ha tenido dengue, Zika o Chikungunya en el último mes, ¿o ha presentado algunos de los síntomas mencionados en las preguntas 13 y 14?

24. Si respondió SI a la pregunta anterior, ¿por cuál(cuáles) de los siguientes ha afectada alguna de las personas con las cuales usted convive? Puede marcar más de una opción.

**Anexo 2.** Resultado de un gel de electroforesis en gel de agarosa al 2% en el que identificamos DSI con DENV1 en la ciudad de Medellín.



\*Muestras de pacientes, \*\* control negativo de la primera ronda, \*\*\* control negativo de la segunda ronda, + marcador de peso molecular (100 pb), ++ controles positivos para cada serotipo (DENV1, DENV2, DENV3 Y DENV4)

Nota: el tamaño de los productos de las muestras amplificadas concuerda con el tamaño esperado para DENV1 (211 pb)

**Anexo 3.** Numero de muestras que se reportaron por ciudad que se recolectaron en cada semana epidemiológica

SEMANAS EPIDEMIOLÓGICAS								
	49	50	51	52	1	2	3	4
	3	2	NR**	NR	NR	NR	5	3
	2	0	-	-	-	-	0	1
	1	0	-	-	-	-	0	0
	3	0	-	-	-	-	0	0
	10	6	10	NR	4	13	5	NR
	2	0	1	-	0	0	3	-
	0	0	0	-	0	0	0	-
	0	0	0	-	0	0	0	-
	22	9	15	NR	NR	NR	14	17
	0	3	6	-	-	-	1	5
	0	0	0	-	-	-	0	0
	0	0	2	-	-	-	0	2
	4	2	NR	NR	NR	NR	NR	2
	5	1	-	-	-	-	-	0
	3	1	-	-	-	-	-	0
	4	0	-	-	-	-	-	0
	10	19	1	NR	NR	NR	27	17
	0	0	1	-	-	-	4	4
	0	0	0	-	-	-	0	0
	0	0	0	-	-	-	0	0
	3	15	NR	NR	1	7	5	15
	0	1	-	-	0	3	2	0
	1	0	-	-	0	0	0	0
	0	0	-	-	0	1	0	0

No Recolectadas