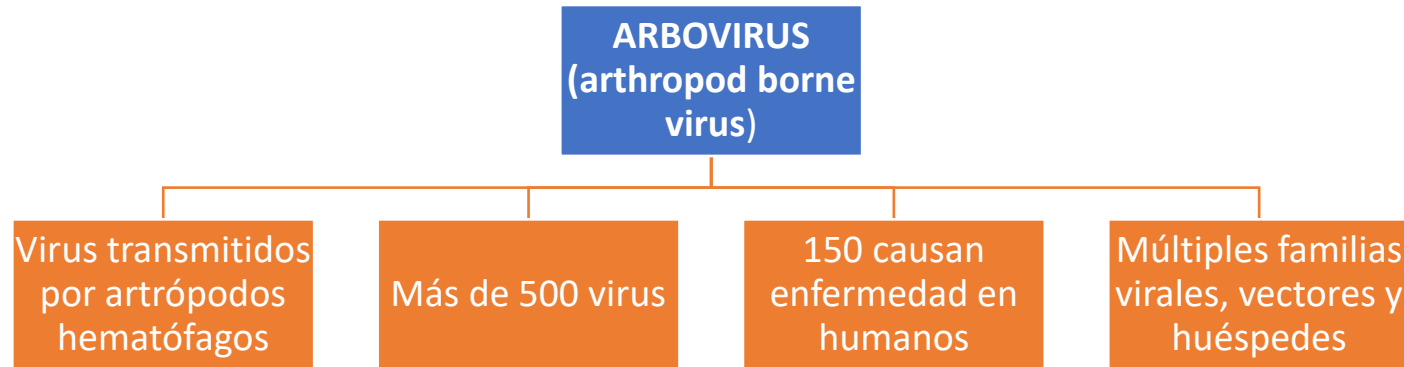


VI Jornada Virtual de Actualización en Inmunizaciones, 2025

Dengue en Argentina: Situación actual y prevención Métodos diagnósticos según el estadio de la enfermedad y vacunación

Bioq. Cristina Alvarez López – Laboratorio de Virología – División Laboratorio Central



Factores de emergencia

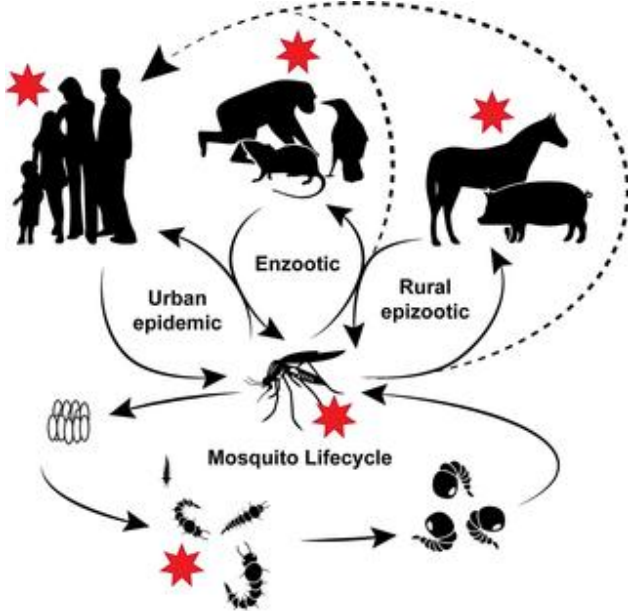
Actividad humana en zonas rurales

Genoma viral ARN

Situación ecológica



Arbovirus y sus ciclos naturales



Grupo 1



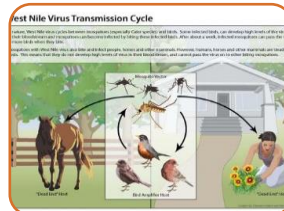
- Ciclo urbano
- Causan epidemias
- Endémicos en varios países
- **DENV, CHIKV, ZIKA**

Grupo 2



- Ciclos enzoóticos entre vertebrados salvajes y vectores
- Capacidad potencial de transmisión persona/persona
- Infecciones esporádicas en humanos por traspaso de límites enzoóticos
- **YFV, OROV; MAYV**

Grupo 3

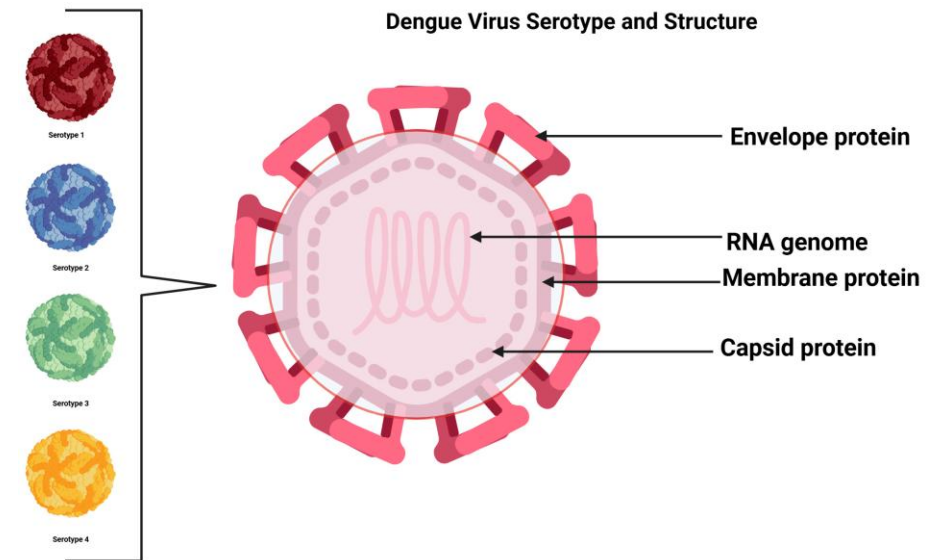


- Ciclos epizoóticos establecidos
- Abarcan fauna salvaje o animales domésticos (reservorios de amplificación)
- Eventualmente afectan a humanos (huéspedes finales, no son capaces de producir altas viremias)
- **WNV, SLEV, EEE, WEE, VEE**



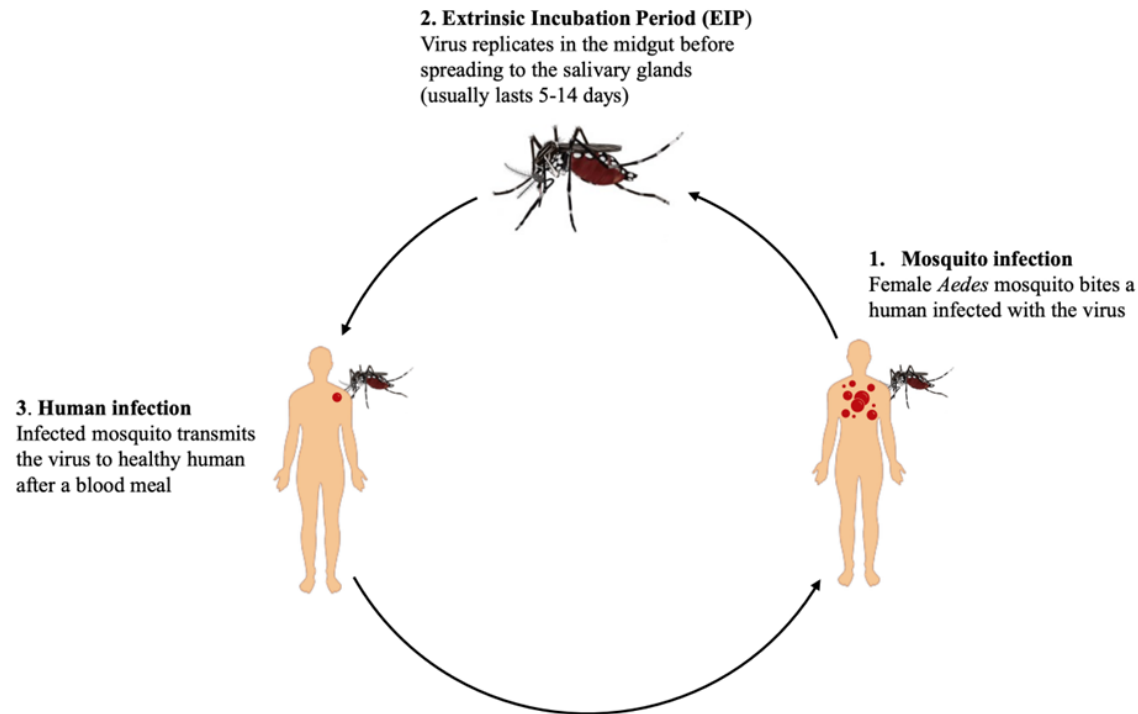
Virus Dengue

- Familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*
- Virus RNA simple cadena polaridad (+)
- 4 serotipos: DENV 1, 2, 3, 4
- Transmitido a través de mosquitos del género *Aedes*
- Es el arbovirus más ampliamente distribuido en América Latina





Virus Dengue

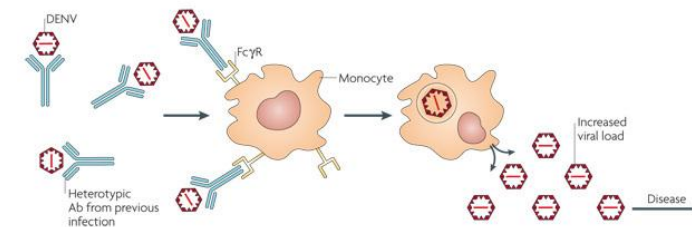


HUMANO

- Multiplica el virus
- Viremia dura 2-7 días
- Inmunidad de por vida **serotipo específica** (parcial frente a diferentes serotipos)

INFECCIÓN SECUNDARIA

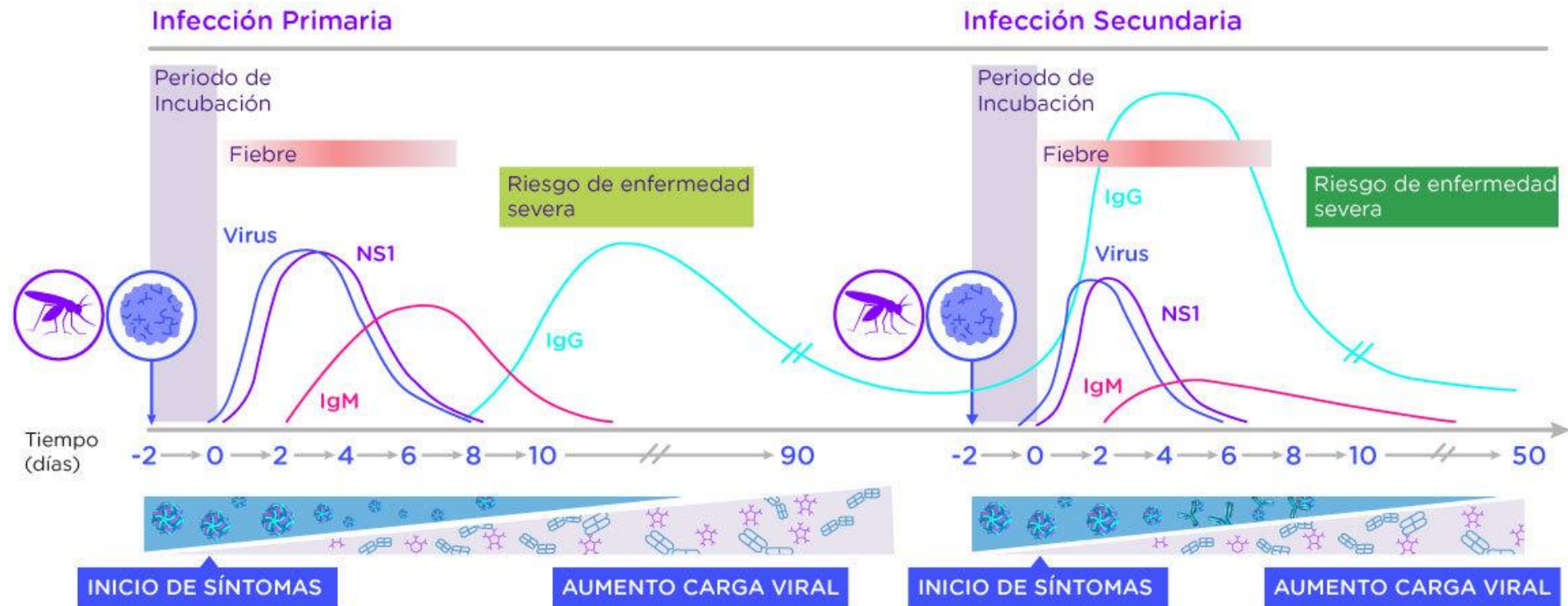
Fenómeno ADE (antibody dependent enhancement)





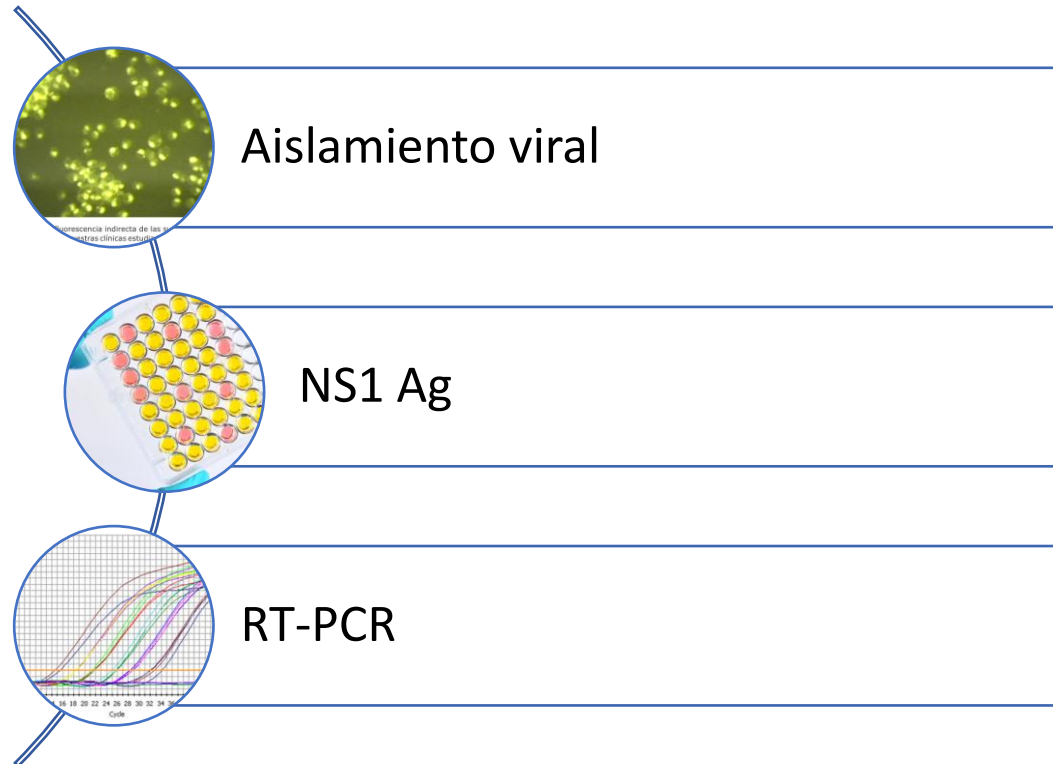
Cinética de los marcadores de infección por DENV

Adapted from Kerkhof K. et al. *Trends Microbiol.* 2020





Métodos directos: Hasta día 5





Diagnóstico: aislamiento viral

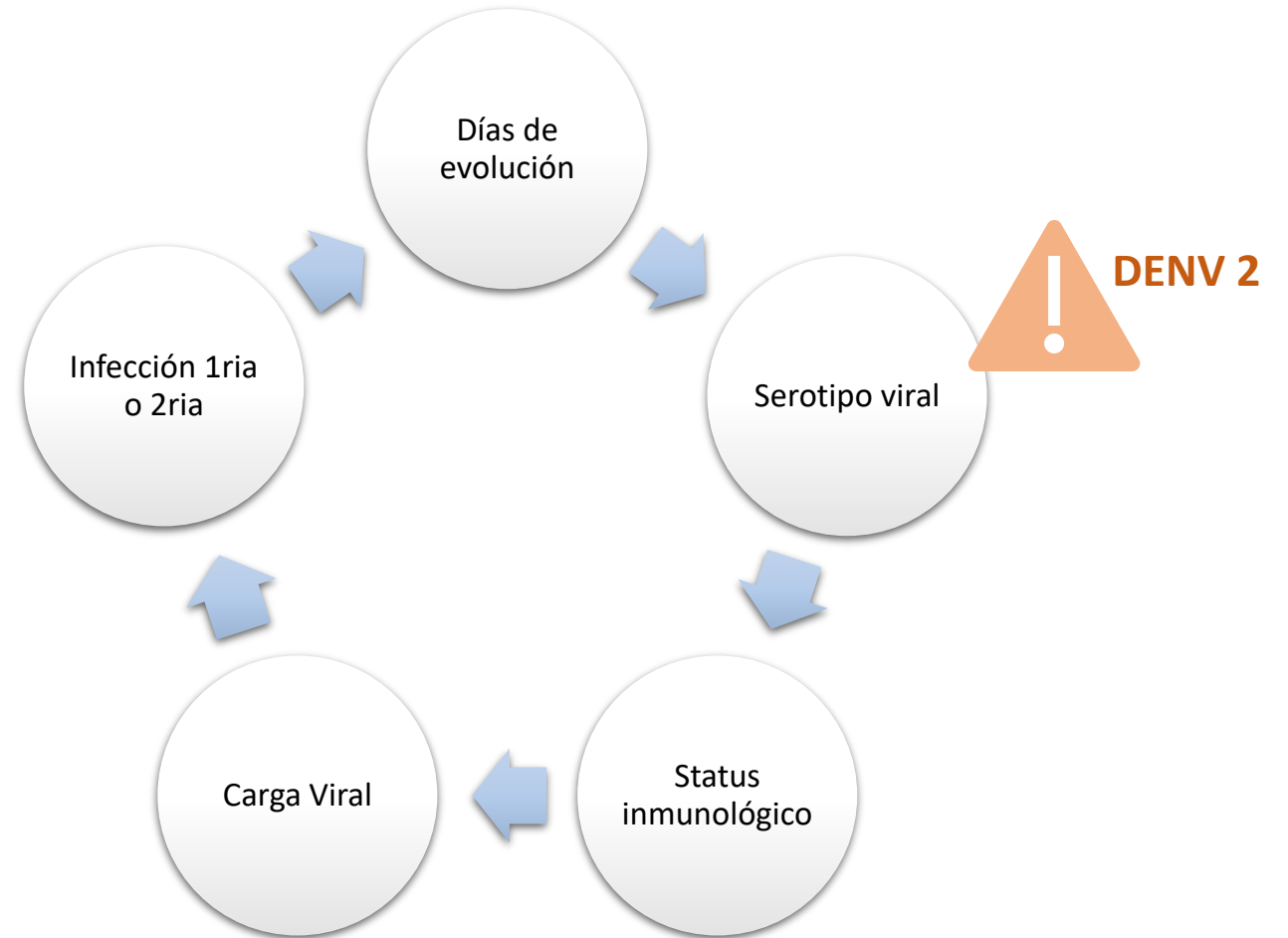
- Muestras en etapa aguda (días 1 a 5)
- Conservación hasta inoculación: -70°C
- Línea celular de mosquito c6/36 ó AP61
- Confirmación mediante el uso de Ac monoclonales
- Laborioso, operador experimentado, requiere equipamiento especial para mantenimiento de cultivos celulares





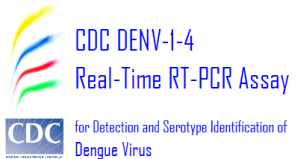
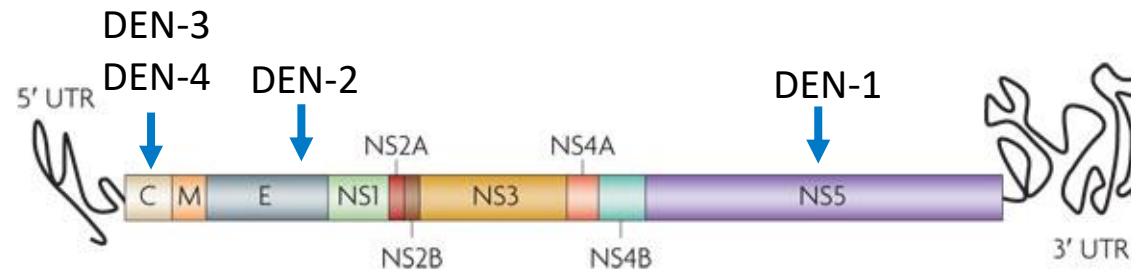
Diagnóstico: Antígeno NS1

- NS1 glicoproteína no estructural
- Es secretada a circulación
- Ensayo comercial ELISA cualitativo
- Fácil realización
- No identifica serotipo
- Se ve afectado por diversos factores





Diagnóstico: RT-qPCR



CDC Tipificación

- Prueba IVD
- Formato multiplex
- Probes: **FAM** (DV1, RP), **HEX** (DV2), **TEXAS RED** (DV3), **CY5** (DV4)

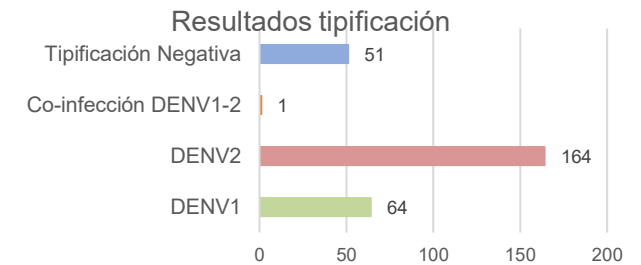
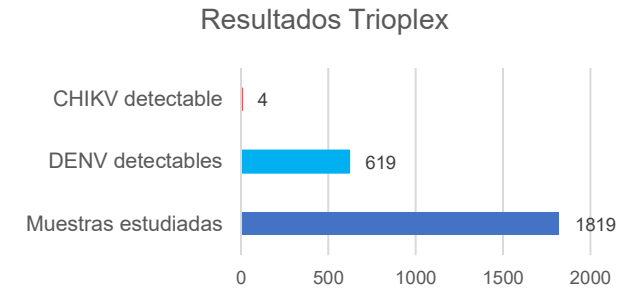
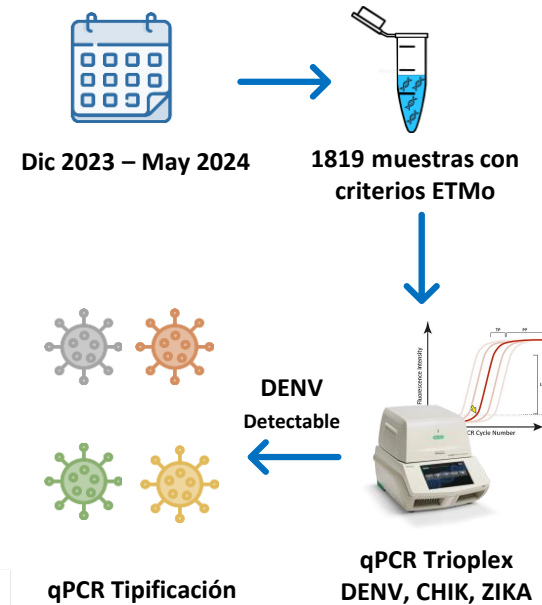
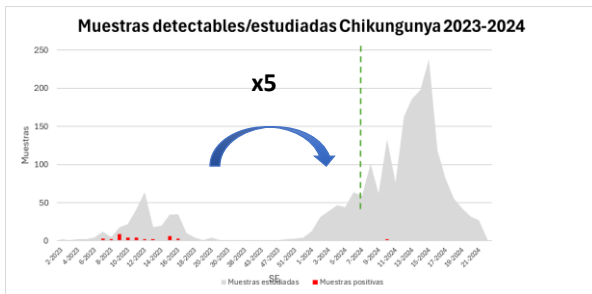
Trioplex ZCD

- Detección conjunta de Zika-Chik-Dengue
- No identifica serotipo Dengue
- Alta S (útil frente a NS1 neg)
- Herramienta útil para vigilancia



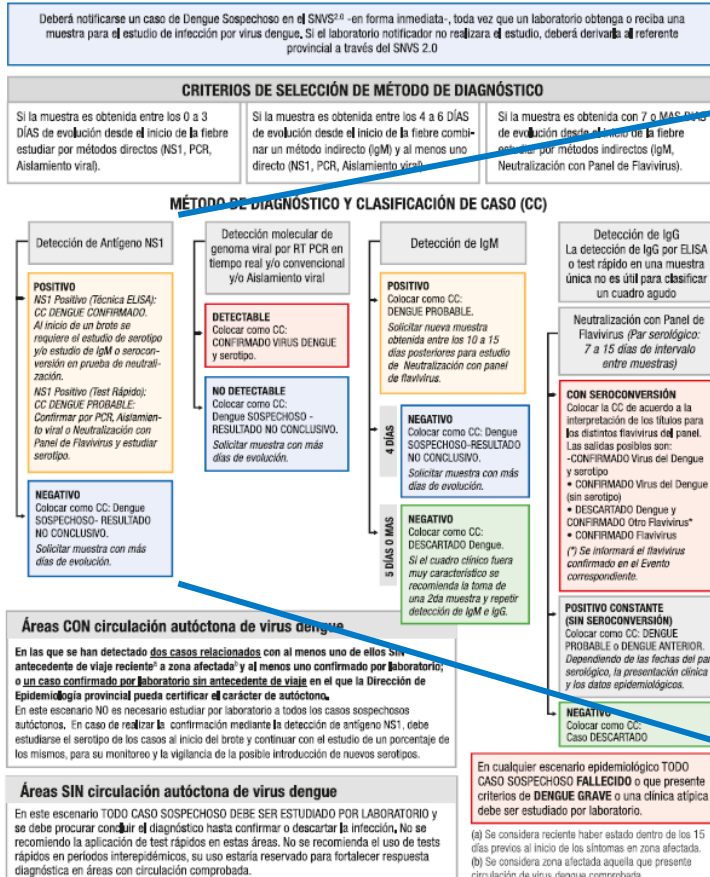
Implementación Trioplex ZCD HNRG

- Tradicionalmente: el estudio de ZIKA y CHIKV se realizaba mediante el testeo con qRT-PCR singleplex, siguiendo un algoritmo de tipo secuencial
- El aumento progresivo de las ETMo hizo necesario ampliar la vigilancia conjunta de los arbovirus presentes en la región
- qRT-PCR Trioplex es una herramienta de alta sensibilidad y costo efectiva que contribuye a una vigilancia más amplia y oportuna (permitió quintuplicar el número de muestras estudiadas para otros arbovirus co-circulantes)





DENGUE | Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS^{2.0}



Área de Vigilancia de la Salud - Dirección de Epidemiología
(011) 4379-9000 interno 4788
notifica@msal.gov.ar



Algoritmo de diagnóstico y notificación

Detección de Antígeno NS1

POSITIVO
NS1 Positivo (Técnica ELISA):
CC DENGUE CONFIRMADO.
Al inicio de un brote se requiere el estudio de serotipo y/o estudio de IgM o seroconversión en prueba de neutralización.
NS1 Positivo (Test Rápido):
CC DENGUE PROBABLE:
Confirmar por PCR, Aislamiento viral o Neutralización con Panel de Flavivirus y estudiar serotipo.

NEGATIVO
Colocar como CC: Dengue SOSPECHOSO- RESULTADO NO CONCLUSIVO.
Solicitar muestra con más días de evolución.

Detección molecular de genoma viral por RT PCR en tiempo real y/o convencional y/o Aislamiento viral

DETECTABLE
Colocar como CC: CONFIRMADO VIRUS DENGUE y serotipo.

NO DETECTABLE
Colocar como CC: Dengue SOSPECHOSO - RESULTADO NO CONCLUSIVO.
Solicitar muestra con más días de evolución.



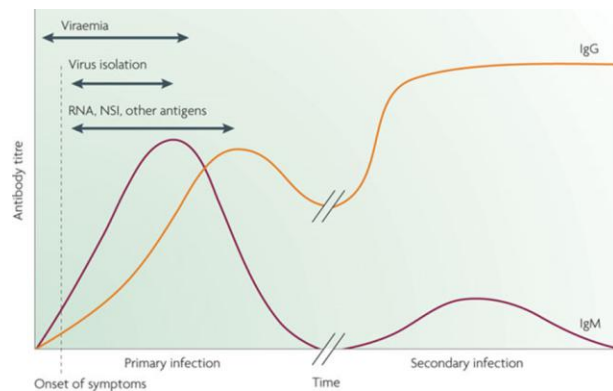
Métodos serológicos: Después de día 5

IgM e IgG

- Disponible en muchos laboratorios
- Baja complejidad
- No identifica serotipo
- **REACCIONES CRUZADAS** (también por vacunación YFV)
- Relación IgM/IgG puede ayudar a diferenciar entre inf. 1ra y 2da



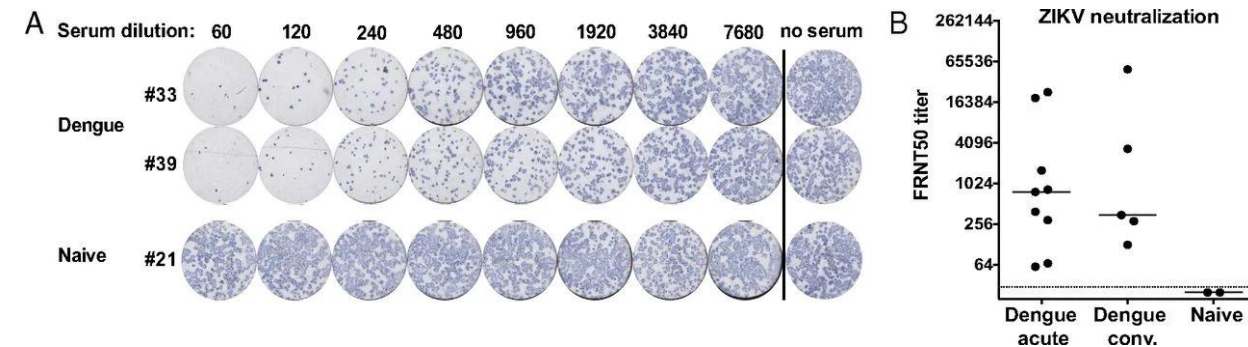
Persistencia de IgM



Nature Reviews | Microbiology

PRNT

- **Neutralización mediada por Ac:** interacción entre virus y Ac que resulta en la inactivación del virus, quien pierde la capacidad de infectar y replicar en cultivo de células (PARAMETRO BIOLÓGICO)
- Se evidencian Ac dirigidos contra la glicoproteína E





DENGUE | Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS^{2.0}

Deberá notificarse un caso de Dengue Sospechoso en el SNVS^{2.0} - en forma inmediata -, toda vez que un laboratorio obtenga o reciba una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realiza el estudio, deberá derivarla al referente provincial a través del SNVS 2.0

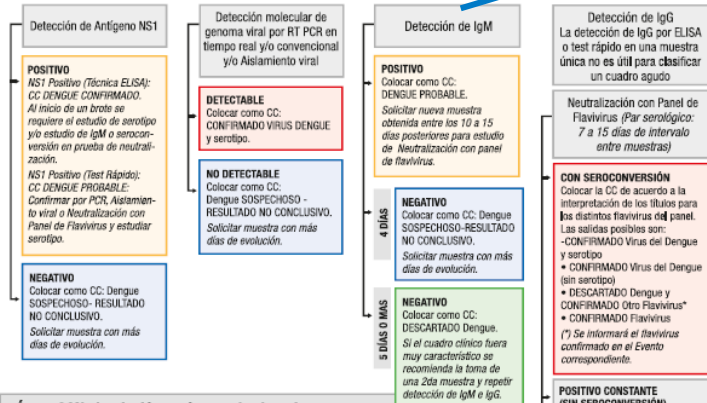
CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida con 7 o MAS DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE CASO (CC)



Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos relacionados con al menos uno de ellos SIN antecedente de viaje reciente* a zona afectada* y al menos uno confirmado por laboratorio; o un caso confirmado por laboratorio sin antecedente de viaje en el que la Dirección de Epidemiología provincial pueda certificar el carácter de autóctono.

En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos autóctonos. En caso de realizar la confirmación mediante la detección de antígeno NS1, debe estudiarse el serotipo de los casos al inicio del brote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos, para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

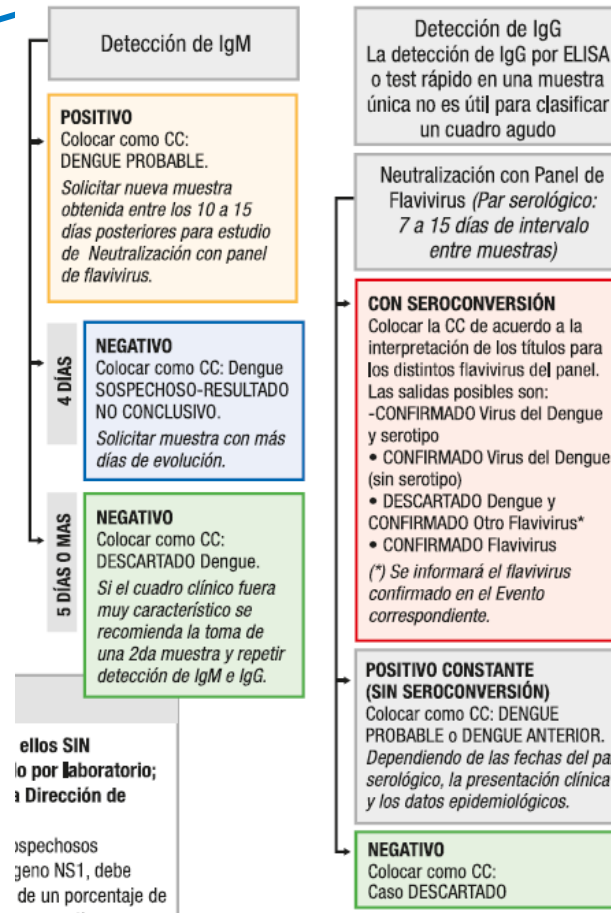
Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar confirmar el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en períodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

Área de Vigilancia de la Salud - Dirección de Epidemiología
(011) 4379-9000 interno 4788
notifica@msal.gov.ar



Algoritmo de diagnóstico y notificación

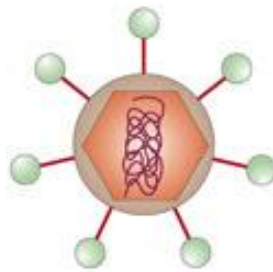




Recordando...

HASTA DÍA 5

Direct methods



Virus
isolation



Genome
detection



Antigen
detection

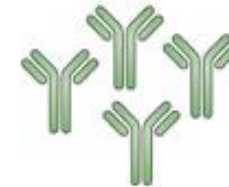
Specificity

DESPUÉS DE DÍA 5

Indirect methods



Serology
IgM



Serology
IgG

Opportunity

Muestras:

- Suero
- Plasma con EDTA
- En determinados casos (solo mediante PCR): orina, LCR, biopsias

Muestras:

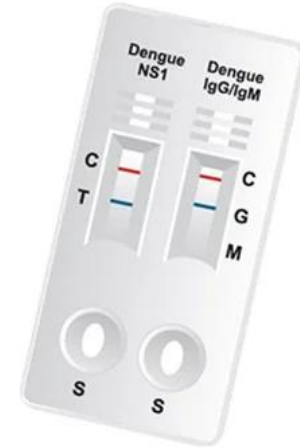
- Suero



Test rápido (TR)

- Inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral con interpretación óptica
- Para utilizar en laboratorios de baja complejidad
- Detecta NS1 – IgM – IgG
- Sensibilidad y Especificidad variables
- VPP y VPN variables (en relación con prevalencia)
- No recomendado para períodos inter epidémicos

Utilización en situación de brote



			Interpretación
NS1 +	IgM -	IgG -	PROBABLE
NS1 +	IgM -	IgG +	PROBABLE
NS1 +	IgM +	IgG -	PROBABLE
NS1 +	IgM +	IgG +	PROBABLE
NS1 -	IgM +	IgG +	PROBABLE
NS1 -	IgM +	IgG -	PROBABLE



Evaluación del desempeño del TR de Antígeno NS1 para virus Dengue en HNRG 2024

MATERIALES Y MÉTODOS



Análisis retrospectivo de resultados de TR para DENV y RT-qPCR de **358 pacientes** con sospecha de infección aguda por DENV que concurren al hospital en un período de cuatro meses.



Se utilizó el **TR JusChek®**, realizado de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
La detección molecular de DENV se realizó mediante **RT-qPCR** de acuerdo al protocolo CDC.

CONCLUSIONES

El análisis de concordancia entre el método molecular y el TR evidenció un **buen desempeño del TR**, pero mostró una S menor a la reportada por el fabricante (95.8%).

Se observaron **diferentes desempeños del TR para DENV1 y DENV2**, lo que hace necesario interpretar los resultados del TR de acuerdo al escenario particular de cada brote y de los serotipos circulantes.

El **bajo VPN del TR** indica que frente a resultados negativos no es correcto descartar un caso sospechoso de DENV y que pueden requerirse estudios adicionales.

RESULTADOS

Tabla n°1: Resultados obtenidos para TR Juschek y RT-qPCR.

		RT-qPCR		
		Detectable	No detectable	Total
Test Rápido	Positivos	206	9	215
	Negativos	47	96	143
	Total	253	105	358

Sensibilidad: 81.4%
(IC: 76.2-85.7%)
Especificidad: 91.4%
(IC: 84.5-95.4%)
Valor predictivo negativo: 67.1%
Valor predictivo positivo: 95.8%

Tabla n°2: Sensibilidad para TR de acuerdo con los diferentes serotipos DENV.

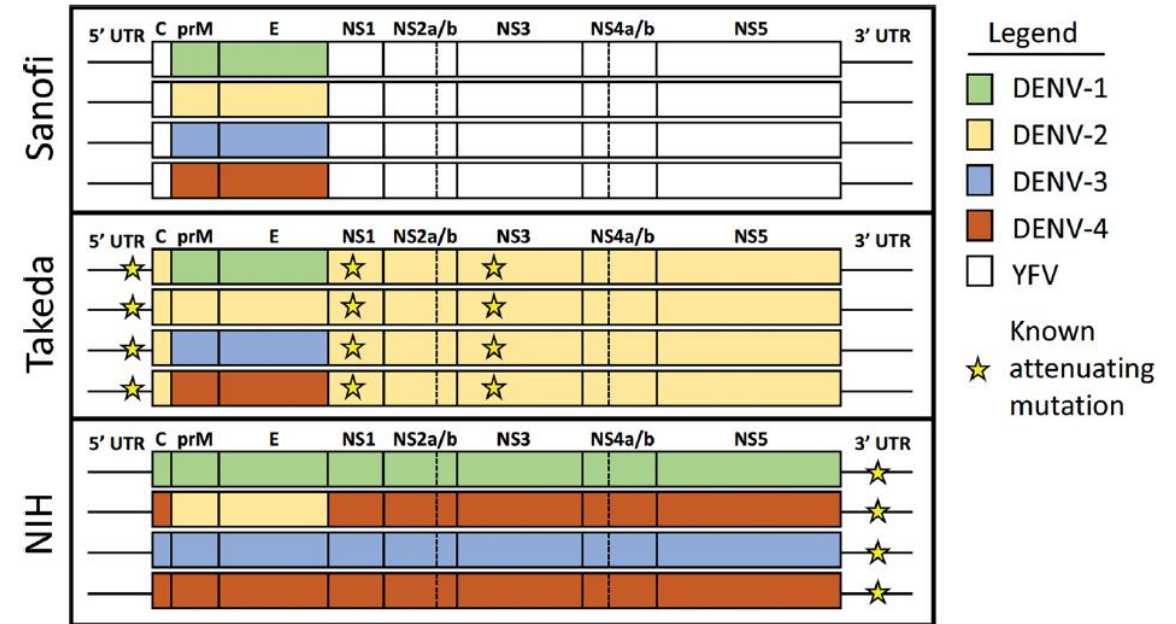
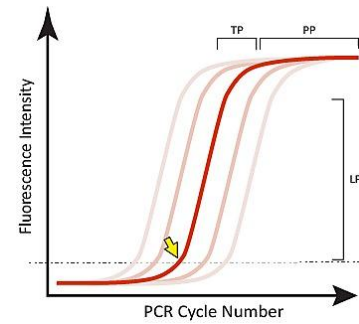
		Serotipo	
		DENV-1	DENV-2
Detectables por RT-qPCR		108	117
Test Rápido	Positivos	106	100
	Negativos	2	17
Sensibilidad (%) IC (95%)		98.1 (93.5-99.5)	85.5 (77.9-90.7)



Laboratorio y vacuna

- QDENGAR[®]: vacuna virus vivo atenuado
- Tetravalente
- Recombinante quimérica

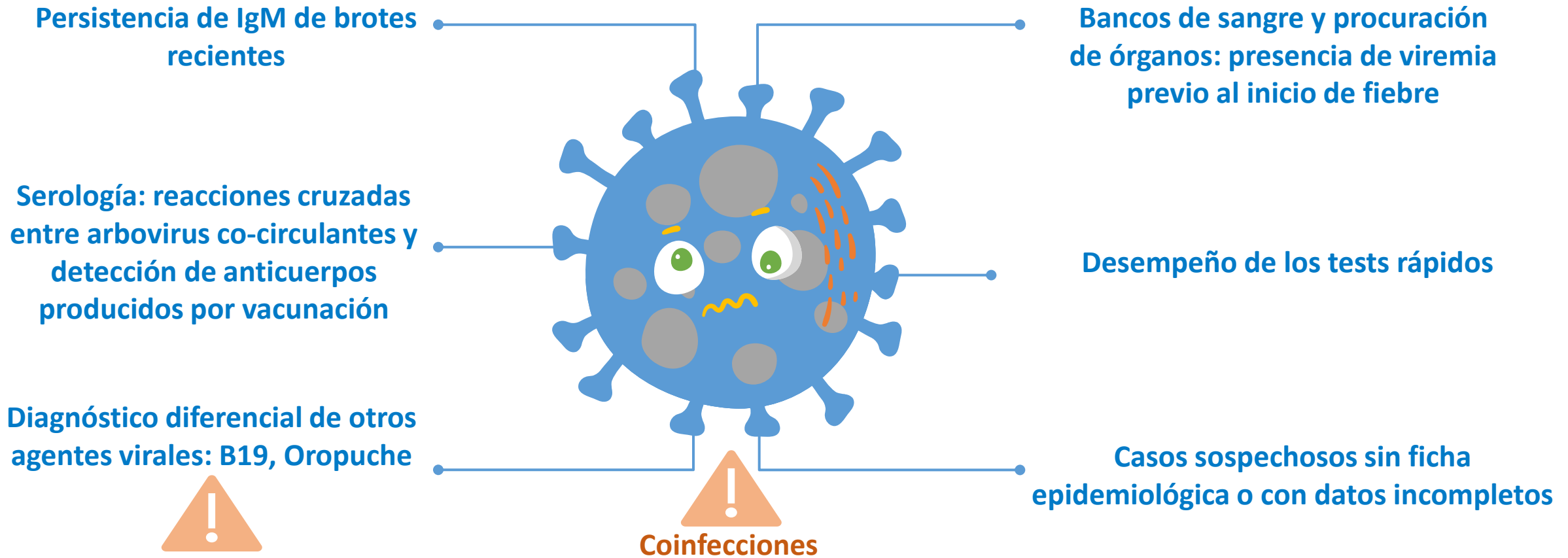
Serotipo	Región genoma	RT-qPCR CDC
DEN-1	NS5	✗
DEN-2	E	✓
DEN-3	prM	✓
DEN-4	prM	✓



- **Teórico:** 3 curvas de amplificación (DEN-2, DEN-3, DEN-4)
- En casos positivos recientemente vacunados, podríamos pensar en estrategia de secuenciación genómica (dependiente de los valores de C_q)
- Estudios de fase II demostraron presencia de IgM e IgG a los 30 días en pacientes vacunados, sin detección de Ag NS1 en ningún punto temporal



Situaciones problemáticas





Situaciones problemáticas: ficha epidemiológica incompleta

Datos clave a ser consignados:

- Identificación paciente (DNI, domicilio)
- Fechas Inicio de fiebre y toma de muestra
- Síntomas (oportunidad de estudiar otros arbovirus, ej: CHIKV, Oropuche)
- Viajes
- Vacunación



GOBIERNO DE LA CIUDAD DE BUENOS AIRES. MINISTERIO DE SALUD FICHA EPIDEMIOLÓGICA INTEGRADA 2016 para ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR MOSQUITOS (DENGUE, FIEBRE CHIKUNGUNYA, ENFERMEDAD POR VIRUS ZIKA Y FIEBRE AMARILLA) Enviar a: myalenzuela@buenosaires.gob.ar // epidemiologiaca@buenosaires.gob.ar / FAX: 4123-3191																																							
DATOS DEL PACIENTE	APELLIDO Y NOMBRES: Edad: Sexo: Doc. identidad (tipo y nº): Nacionalidad: Dirección (Calle y nº): Tel.: Ciudad: Provincia: País:																																						
DATOS DEL NOTIFICADOR	A y N del Profesional: Tel.: Fecha de Notificación: Correo electrónico: Lugar de atención:																																						
DATOS CLÍNICOS	Sospecha de: DENGUE ☐ / FIEBRE CHIKUNGUNYA ☐ / ZIKA ☐ / FIEBRE AMARILLA ☐ / OTROS:																																						
	Fecha de inicio de la fiebre: / / Fecha de la consulta: / /																																						
	<table><tr><td>cefalea</td><td>vómitos</td><td>hepatomegalia</td><td>epistaxis</td></tr><tr><td>dolor retro ocular</td><td>diarrea</td><td>esplenomegalia</td><td>petequias/ púrpura</td></tr><tr><td>artralgias</td><td>dolor abdominal</td><td>oligoanuria</td><td>gingivorragia</td></tr><tr><td>poliartritis</td><td>conjuntivitis</td><td>fotofobia</td><td>hemoptisis</td></tr><tr><td>dolor de espalda</td><td>inyección conjuntival</td><td>sind. Confusional</td><td>metrorragia</td></tr><tr><td>anorexia</td><td>erupción cutánea</td><td>sind. Meningeo</td><td>melena</td></tr><tr><td>malestar general</td><td>prurito</td><td>encefalitis</td><td>hematemesis</td></tr><tr><td>estomatitis</td><td>astenia</td><td>Guillain Barré</td><td>Malif. Congénitas</td></tr><tr><td>úlceras orales</td><td>otros</td><td>ictericia</td><td>bradicardia relativa</td></tr></table>			cefalea	vómitos	hepatomegalia	epistaxis	dolor retro ocular	diarrea	esplenomegalia	petequias/ púrpura	artralgias	dolor abdominal	oligoanuria	gingivorragia	poliartritis	conjuntivitis	fotofobia	hemoptisis	dolor de espalda	inyección conjuntival	sind. Confusional	metrorragia	anorexia	erupción cutánea	sind. Meningeo	melena	malestar general	prurito	encefalitis	hematemesis	estomatitis	astenia	Guillain Barré	Malif. Congénitas	úlceras orales	otros	ictericia	bradicardia relativa
	cefalea	vómitos	hepatomegalia	epistaxis																																			
dolor retro ocular	diarrea	esplenomegalia	petequias/ púrpura																																				
artralgias	dolor abdominal	oligoanuria	gingivorragia																																				
poliartritis	conjuntivitis	fotofobia	hemoptisis																																				
dolor de espalda	inyección conjuntival	sind. Confusional	metrorragia																																				
anorexia	erupción cutánea	sind. Meningeo	melena																																				
malestar general	prurito	encefalitis	hematemesis																																				
estomatitis	astenia	Guillain Barré	Malif. Congénitas																																				
úlceras orales	otros	ictericia	bradicardia relativa																																				
Prueba del torniquete: NO ☐ POS ☐ NEG ☐ HTO:% GB:/mm3. Fórmula: Plaquetas:/mm3. Bilirrubina: Transaminasas: Internado: NO ☐ SI ☐ Fecha:/...../..... HTAL: SALA GRAL ☐ UTI ☐																																							
ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS	1. Tuvo anteriormente DENGUE ☐ CHIKUNGUNYA ☐ ZIKA ☐ F. AMARILLA ☐ ¿CUÁNDO? NO: ☐ NO sabe ☐ 2. Ha viajado en los 15 días previos al comienzo de los síntomas: NO: ☐ SI: ☐ ¿Dónde viajó? Fecha de salida:/...../..... Fecha de Regreso:/...../..... 3. Contacto reciente con enfermos de: DENGUE ☐ CHIKUNGUNYA ☐ ZIKA ☐ F. AMARILLA ☐ NO: ☐ NO sabe ☐ 4. Tiene recipientes con agua u otros criaderos de mosquitos en su domicilio? NO: ☐ SI: ☐ Tipo: 5. Lugar de trabajo (dirección): 6. Recibió VACUNA CONTRA LA FIEBRE AMARILLA? NO: ☐ SI: ☐ Cuándo? 7. Transmisión vertical: NO: ☐ SI: ☐ 8. Recibió transfusiones dentro de los 15 días previos al inicio de la enfermedad? NO: ☐ SI: ☐ 9. Donó sangre 48hs antes del inicio de la enfermedad? NO: ☐ SI: ☐ Dónde? 10.- COMORBILIDADES: NO ☐ Embarazo: ☐ Semanas de gestación: Obesidad: ☐ DBT: ☐ Cardiopatías: ☐ Inmunosupresión ☐ Edad < 3m: ☐ Edad > 70: ☐ Otras: RIESGO SOCIAL: ☐ → vive solo ☐ difícil acceso hospital ☐ pobreza extrema ☐ otros:																																						
	SIGNOS DE ALARMA NO ☐ SI ☐ : Dolor abdominal intenso y continuo ☐ Vómitos persistentes ☐ Derrame seroso ☐ Sangrado de mucosas ☐ Somnolencia/irritabilidad ☐ Hepatomegalia > 2cm ☐ Incremento brusco del HTO ☐ → N° Disminución rápida plaquetas ☐ N° DENGUE GRAVE NO ☐ SI ☐ : Shock hipovolémico ☐ Distress respiratorio ☐ Sangrado Grave ☐ Daño orgánico importante ☐																																						
LABORATORIO VIROLÓGICO	Tipo Muestras: Fecha toma muestra: Técnicas y resultados Labor. Inicial Técnicas Resultados Labor. Referencia																																						
	Sangre 1ª																																						
	Sangre 2ª																																						
	Sangre 3ª																																						
Otras																																							
EVOLUCIÓN y CLASIFICACIÓN FINAL	Complicaciones NO ☐ SI ☐ ¿Cuáles?																																						
	Fecha alta:/...../..... CURADO ☐ CON SECUELA ☐ (¿Cuál?), FALLECIDO ☐ DERIVADO ☐ DENGUE ☐ CHIKUNGUNYA ☐ ZIKA ☐ F. AMARILLA ☐ Otro ☐ Observaciones: Firma:																																						



Finalmente....

En un área en la que ya se ha confirmado un brote de dengue, el diagnóstico de laboratorio no está destinado al manejo de los casos sino que se realiza para la **vigilancia**.

Estudiar un **porcentaje** de los casos para **monitorear** duración del brote y posible introducción de diferentes serotipos

Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos relacionados con al menos uno de ellos SIN antecedente de viaje reciente^a a zona afectada^b y al menos uno confirmado por laboratorio; o un caso confirmado por laboratorio sin antecedente de viaje en el que la Dirección de Epidemiología provincial pueda certificar el carácter de autóctono.

En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos autóctonos. En caso de realizar la confirmación mediante la detección de antígeno NS1, debe estudiarse el serotipo de los casos al inicio del brote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos, para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en períodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

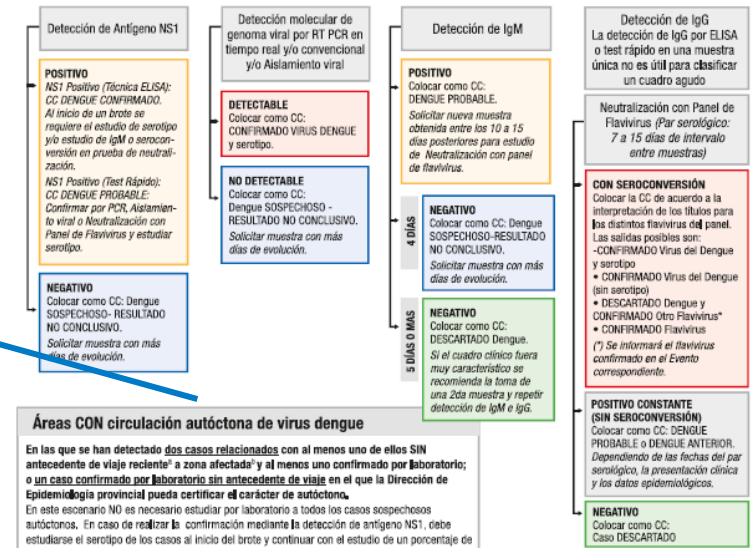
DENGUE | Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS^{2.0}

Deberá notificarse un caso de Dengue Sospechoso en el SNVS^{2.0} -en forma inmediata-, toda vez que un laboratorio obtenga o reciba una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realiza el estudio, deberá derivarla al referente provincial a través del SNVS 2.0.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre, estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral).	Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre, combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral).	Si la muestra es obtenida con 7 o MAS DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre, estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).
--	--	--

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE CASO (CC)



Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos relacionados con al menos uno de ellos SIN antecedente de viaje reciente^a a zona afectada^b y al menos uno confirmado por laboratorio; o un caso confirmado por laboratorio sin antecedente de viaje en el que la Dirección de Epidemiología provincial pueda certificar el carácter de autóctono.

En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos autóctonos. En caso de realizar la confirmación mediante la detección de antígeno NS1, debe estudiarse el serotipo de los casos al inicio del brote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos, para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en períodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

En cualquier escenario epidemiológico TODO CASO SOSPECHOSO FALLECIDO o que presente criterios de DENGUE GRAVE o una clínica atípica debe ser estudiado por laboratorio.

(a) Se considera reciente haber estado dentro de los 15 días previos al inicio de los síntomas en zona afectada.
(b) Se considera zona afectada aquella que presente circulación de virus dengue comprobada.

Ministerio de Salud
Dirección de Epidemiología
(011) 4379-9000 interno 4788
notifica@msal.gov.ar





Conclusiones

- El diagnóstico de los arbovirus es complejo, debido a las múltiples **reacciones cruzadas** que presentan
- Los esfuerzos deben estar destinados a estudiar pacientes en **período agudo** (< 6 días), para aumentar las posibilidades de obtener CASOS CONFIRMADOS y no CASOS PROBABLES O SOSPECHOSOS NO CONCLUSIVOS
- Es indispensable combinar **múltiples técnicas** para lograr la correcta identificación viral
- Resulta imprescindible que las muestras sean acompañadas por la **ficha epidemiológica**
- El algoritmo de diagnóstico debe tener en cuenta el **escenario epidemiológico** al momento del estudio



Nuestro equipo

- Acevedo, María Elina
- Alexay, Sofía
- Alvarez López, Cristina
- Barquez, Raquel
- Beltrán, Carla
- Delucchi, Karina
- Demesa, Rosana
- González, Mónica
- Jacquez, Oscar
- Luna, Oscar
- Lusso, Silvina
- Martínez, Yamila
- Mistchenko, Alicia
- Natale, Mónica
- Turchiaro, Christian
- Valinotto, Laura
- Zacarías, Karina



Muchas gracias!

crisalvarezlopez@gmail.com

virologiaonline@gmail.com