

VARIABLES HEMATOLÓGICAS Y HEMOSTÁSICAS EN PACIENTES CON MALARIA Y FIEBRE DENGUE, PROCEDENTES DEL MUNICIPIO SUCRE, ESTADO SUCRE

HEMATOLOGICAL AND HEMOSTASIC VARIABLES IN MALARIA AND DENGUE PATIENTS IN SUCRE COUNTY, STATE OF SUCRE

ERIKA J. HANNAOUI R., MARÍA Z. SULBARÁN Y MIGUEL A. CAMPOS G.

Universidad de Oriente-Núcleo Sucre. Escuela de Ciencias. Departamento de Bioanálisis.

E-mail: erikajhr@yahoo.com

RESUMEN

La malaria y la fiebre dengue son enfermedades metaxénicas y problemas de salud pública en el estado Sucre, que tienden a confundirse entre sí por la similitud clínica que presentan en determinado momento de la enfermedad. Se realizó un estudio transversal analítico multicéntrico a 30 individuos enfermos de malaria por *Plasmodium vivax* y 45 pacientes con fiebre dengue, de ambos sexos y grupo etario entre 12 y 44 años. A cada individuo se le aplicó una encuesta para considerar datos clínicos y se determinaron las variables hematológicas: hemoglobina, hematocrito, cuenta leucocitaria, recuento diferencial blanco y cuenta de reticulocitos; y variables hemostásicas: cuenta plaquetaria, tiempo de protrombina (PT) y tiempo de tromboplastina parcial activada (PTTa). Los resultados obtenidos fueron analizados a través de métodos de frecuencia simple y t-student. Las manifestaciones clínicas más frecuentes en los individuos con malaria fueron: fiebre (93,33%), escalofríos (90%), cefalea (80%), sudoración (76,67%) y osteoartralgia (53,33%), con anemia, leucopenia, neutrofilia, y trombocitopenia, como hallazgos hematológicos. En los pacientes con fiebre dengue, las manifestaciones clínicas más comunes fueron: fiebre (100%), cefalea (60%), escalofríos (57,78%), dolor retroorbital (53,33%) y osteoartralgias (52,11%), con leucopenia, neutropenia, linfocitosis, y trombocitopenia, mientras que la hemoglobina, hematocrito, segmentados eosinófilos, reticulocitos, PT y PTTa, se encontraron dentro de los valores de referencia. De todos los resultados obtenidos, se pudo observar, que existen variaciones en las variables hematológicas y hemostásicas de los pacientes con malaria por *Plasmodium vivax* y los que padecen de fiebre dengue.

PALABRAS CLAVES: Malaria, fiebre dengue, variables hematológicas y hemostásicas, diagnóstico.

ABSTRACT

Malaria and dengue are metaxenic, or insect-borne, diseases. They constitute important public health problems in the state of Sucre and one is often mistaken for the other due to their clinical similarities during a certain stage of the disease. A multicentric, cross-sectional analysis comprising 30 *Plasmodium vivax* malaria and 45 dengue patients of both sexes, whose ages ranged between 12 and 44 years, was undertaken to ascertain both the hematological variables: hemoglobin, hematocrit, white blood count, white blood cell differential count, and reticulocyte count; and the hemostatic variables: platelet count, prothrombin time (PT), and activated partial thromboplastin time (APTT). The results obtained were analyzed by both simple frequency and t-Student tests. The clinical manifestations most frequently reported by malaria patients were: fever (93.33%), chills (90%), cephalgia (80%), sweating (76.67%), and osteoarthritis (53.33%), the hematological findings being anemia, leucopenia, neutrophilia, and thrombocytopenia. The dengue patients manifested fever (100%), cephalgia (60%), shivering (57.78%) retro-orbital pain (53.33%), and osteoarthritis (52.11%), with concomitant leucopenia, neutropenia, lymphocytosis, and thrombocytopenia, while the values for hemoglobin, hematocrit, segmented eosinophils, reticulocytes, PT, and APTT were within reference standards. The results indicate that there are variations between both the hematological and hemostatic manifestations of patients with *P. vivax* malaria and those of dengue sufferers.

Key words: Malaria, dengue, hematological and hemostatic variables, diagnosis

INTRODUCCIÓN

La malaria también conocida como paludismo, es una enfermedad febril producida por protozoarios intracelulares del género *Plasmodium*, siendo 4 especies las que causan infección al hombre: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale* (Crutcher y Hoffman, 1998). En Venezuela existen tres focos epidemiológicos: occidental, oriental y meridional; el estado Sucre forma parte del foco oriental y *P. vivax* es la especie endémica en esta zona geográfica (Aché, 1998; Navarro, *et al.* 2003).

La gota gruesa es el método de diagnóstico directo, rápido y eficaz de la entidad malárica, además, permite obtener una idea del número de parásitos que se encuentran en la sangre; éste, junto con el extendido sanguíneo, son los métodos más utilizados en la actualidad (Botero y Restrepo, 1998; Zabala, 2002). Cuando el análisis parasitológico es difícil de obtener, el diagnóstico indirecto o serológico para la detección de antígenos parasitarios, es el indicado (Homez *et al.*, 1995; English y Newton, 2002).

Clínicamente la malaria puede confundirse con otras enfermedades febriles como: fiebre amarilla, fiebre tifoidea y paratifoidea, absceso hepático, mononucleosis infecciosa, hepatitis, brucelosis, kala-azar, procesos sépticos y dengue (Botero y Restrepo, 1998).

El dengue es una enfermedad febril, producida por un virus de la familia *Flaviviridae*, del cual existen cuatro serotipos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4), clasificándose clínicamente en fiebre dengue (FD) y fiebre por dengue hemorrágico (FDH), esta última se valora según su gravedad en grados del I al IV (Finizola, 1998; Pereira, 2003).

Para el diagnóstico de la fiebre dengue se recurre a pruebas serológicas para confirmarlo, estas constituyen un auxiliar imprescindible en el acercamiento etiológico, por lo difícil que resulta lograr el aislamiento viral (Pulido, 1996).

Es imposible prescindir del laboratorio bioanalítico para lograr definir la etiología de la enfermedad malárica y la fiebre por dengue, y debido a que en los laboratorios de rutina no se realizan pruebas como serología para diagnóstico de malaria (en caso de baja parasitemia) o para el virus dengue, por resultar costosas, se consideraron las variables hematológicas y hemostáticas en estas enfermedades, en pobladores de las parroquias

Ayacucho, Santa Inés, Altagracia y Valentín Valiente, del municipio Sucre del estado Sucre, para tratar de establecer las variaciones de estos parámetros, que permitan al clínico realizar un acercamiento diagnóstico en estas dos enfermedades.

PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de la muestra

Para la realización de esta investigación se implementó un diseño transversal analítico multicéntrico. La población en estudio estuvo constituida por los pacientes con diagnóstico de malaria y fiebre dengue que acudieron a 5 ambulatorios urbanos, ubicados en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el período de abril a octubre del año 2003; para obtener el tamaño de la muestra se aplicó la fórmula que se especifica en el paquete estadístico Epi info versión 6.04, obteniéndose 30 pacientes para malaria y 45 para fiebre dengue. A cada paciente, se le aplicó una encuesta donde se consideraron datos personales, epidemiológicos y clínicos, siguiendo un protocolo previamente diseñado.

Criterios de inclusión

Se seleccionaron aquellos pacientes que presentaban fiebre, escalofríos, sudoración, cefalea, dolor retroorbital, mialgias, rash y osteoartralgia, excluyéndose aquellos que habían sido medicados, y los que presentaban secreción nasal purulenta.

Toma de muestra

Para realizar el diagnóstico de malaria o de fiebre dengue, las pruebas hematológicas y las pruebas hemostáticas, se tomó una muestra sanguínea de 10 ml a los pacientes, que se encontraban entre el tercer y quinto día de evolución de la enfermedad febril.

Diagnóstico de malaria

Se realizó aplicando el método de la gota gruesa, para visualizar el pigmento malárico, y el extendido sanguíneo para la identificación de la especie de *Plasmodium*. La gota gruesa se deshemoglobinizó colocándose 3 minutos en agua destilada, mientras que el extendido sanguíneo una vez seco, se tiñó por la coloración de Giemsa, la cual consiste en agregar alcohol metílico por 1 minuto, posteriormente cubrir con colorante de Giemsa (previamente diluido 1/10 en agua destilada) durante 15 a 20 minutos, e inmediatamente

lavar con agua de chorro. La gota gruesa fue coloreada de igual manera, pero sin fijar con metanol (López, 1985).

Diagnóstico de fiebre dengue

Se aplicó el método UMELISA dengue IgM, el cual está basado en la técnica de ELISA en su variante de captura, en la cual la fase sólida está constituida por tiras de ultramicro ELISA (10 µl por pocillo) revestidas con anti IgM humana. Las muestras se incuban en los pocillos, y si estas contienen anticuerpos IgM específicos, se fijarán a la anti IgM humana del recubrimiento. A continuación, previo lavado, se añade el antígeno específico de dengue, seguido nuevamente, de incubación y lavado. Se añade entonces un anticuerpo monoclonal de ratón específico al virus dengue, conjugado con fosfatasa alcalina. En caso de reacción positiva, este anticuerpo marcado se unirá al complejo formado previamente sobre la fase sólida. Se realiza un nuevo lavado de la tira, y se añade un sustrato fluorogénico, que será hidrolizado, y la intensidad de la fluorescencia emitida permite detectar la presencia de anticuerpos IgM específicos contra el virus del dengue (Laferté *et al.* 1992).

Variables hematológicas: hemoglobina, hematocrito, cuenta leucocitaria, cuenta leucocitaria diferencial y cuenta de reticulocitos

La determinación de hemoglobina, hematocrito y cuenta leucocitaria se realizó de manera automatizada, utilizando un analizador hematológico electrónico marca Coulter modelo ADVIA 60; el recuento leucocitario diferencial se realizó por el método visual directo sobre extendido sanguíneo; y la cuenta de reticulocitos se realizó por el método de frotis en fresco con Azul Brillante de Cresil (Bauer, 1986).

Variables hemostáticas: cuenta plaquetaria, tiempo de protrombina (PT) y tiempo de tromboplastina parcial activada (PTTa)

La cuenta plaquetaria se realizó de manera automatizada, utilizando el analizador hematológico electrónico marca Coulter; la determinación del tiempo de protrombina (PT) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (PTTa) fueron realizados por el método visual directo (Bauer, 1986).

Análisis estadístico

Los datos clínicos fueron analizados a través

de métodos de frecuencia simple, y las variables hematológicas y hemostáticas fueron comparadas aplicando la prueba estadística t-student a un nivel de confiabilidad del 95% (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS

De 185 individuos evaluados, se seleccionaron 30 pacientes con gota gruesa positiva, posteriormente se corroboró al *P. vivax* como agente causal de la malaria, tras observación de las formas evolutivas en el extendido sanguíneo. El 37% de los casos eran de sexo femenino y el 63% de los casos de sexo masculino. Del total de individuos evaluados, un grupo de 45 resultó con serología positiva de anticuerpos IgM para virus dengue, confirmándose así el diagnóstico de fiebre dengue, ya que ninguno mostró manifestaciones de sangramiento activo. De este grupo de pacientes, el 29% era de sexo femenino y el 71% de sexo masculino. La edad de ambos grupos de pacientes estuvo comprendida entre 12 y 44 años.

En la tabla 1 se muestran las manifestaciones clínicas presentes en los grupos de pacientes evaluados.

Tabla 1. Variables hematológicas y hemostáticas en malaria y fiebre dengue. Manifestaciones clínicas. Número y porcentaje. Ambulatorios urbanos¹. Cumaná, estado Sucre. Abril a octubre 2003.

Manifestaciones clínicas	Malaria N° (%)	Fiebre dengue N° (%)
Fiebre	28 (93,33)	45 (100,0)
Cefalea	24 (80,00)	27 (60,00)
Escalofríos	27 (90,00)	26 (57,78)
Sudoración	23 (76,67)	-
Osteoartralgia	16 (53,33)	23 (52,11)
Dolor retroorbital	-	24 (53,33)
Mialgias	12 (40,00)	9 (20,00)
Erupción	-	13 (28,89)
Alteraciones Gastrointestinales	8 (26,67)	7 (15,56)
Síntomas respiratorios	-	9 (20,00)
Petequias	-	4 (8,89)
Mareos	8 (26,67)	-
Ictericia	3 (10,00)	-

¹ Ambulatorios: "Ayacucho", "Las Palomas", "Brasil", "Cantarrana" y "Salvador Allende".

La evaluación estadística de los valores de concentración de hemoglobina, porcentaje de hematocrito y cuenta de reticulocitos en los pacientes con malaria y fiebre dengue, se resumen en la tabla 2. En la misma se muestra que existen diferencias estadísticamente muy significativas para la hemoglobina y el hematocrito, y altamente significativas para la cuenta de reticulocitos, al comparar ambos grupos estudiados.

Tabla 2. Variables hematológicas y hemostáticas en malaria y fiebre dengue. Comparación estadística en la cuantificación de hemoglobina, hematocrito, y reticulocitos. Ambulatorios urbanos. Cumaná, estado Sucre. Abril a octubre 2003.

Parámetros	G	N	X	DS	t	p
Hemoglobina (g/dl)	M	30	11,70	1,72	-3,178	0,002**
	FD	45	13,12	2,07		
Hematocrito (%)	M	30	34,87	4,81	-3,47	0,001**
	FD	45	39,07	5,40		
Reticulocitos	M	30	1,25	0,194	20,59	0,000***
	FD	45	0,55	0,112		

G: grupos; X: media aritmética; DS: desviación estándar; t: t-student; p: p-value; M: pacientes con malaria; FD: pacientes con fiebre dengue; **= p<0,01 (muy significativo); ***= p<0,001 (altamente significativo).

La tabla 3 muestra los resultados de la cuenta leucocitaria, el recuento diferencial blanco, y la cuenta plaquetaria, en los pacientes con malaria y fiebre dengue, donde se observa que para la cuenta leucocitaria, el porcentaje de segmentados neutrófilos y el porcentaje de linfocitos en ambos grupos de pacientes, existen diferencias altamente significativas; en el porcentaje de segmentados eosinófilos, no hubo diferencias significativas entre ambas enfermedades, mientras que para la cuenta plaquetaria, se obtuvo diferencias estadísticas muy significativas para ambas afecciones.

Tabla 3. Variables hematológicas y hemostáticas en malaria y fiebre dengue. Comparación estadística de cuenta leucocitaria, recuento diferencial y cuenta plaquetaria. Ambulatorios urbanos. Cumaná, estado Sucre. Abril a octubre 2003.

Parámetros	G	N	X	DS	t	p
C. leucocitaria (x10 ⁹ /l)	M	30	5,32	1,58	3,74	0,000***
	FD	45	3,80	1,47		
Seg. neutrófilos (%)	M	30	70,30	9,64	11,75	0,000***
	FD	45	38,62	13,10		
Linfocitos (%)	M	30	28,33	8,74	-10,92	0,000***
	FD	45	58,8	12,2		
Seg. eosinófilos (%)	M	30	1,19	1,78	-1,40	0,169 ns
	FD	45	2,10	3,06		
C. plaquetaria (x10 ⁹ /l)	M	30	87,00	26,11	-3,64	0,001**
	FD	45	120,43	42,17		

G: grupos; M: pacientes con malaria; FD: pacientes con fiebre dengue; ns=p>0,05 (no significativo); **=p<0,01 (muy significativo); ***= p<0,001 (altamente significativo).

Los resultados de los tiempos de coagulación

(PT, PTTa) se muestran en la figura 1, en la misma se observan valores promedio muy similares para ambos grupos de pacientes evaluados, resaltando que todos se encontraron dentro del rango de referencia considerado como normal; ningún paciente mostró manifestaciones de sangramiento activo.

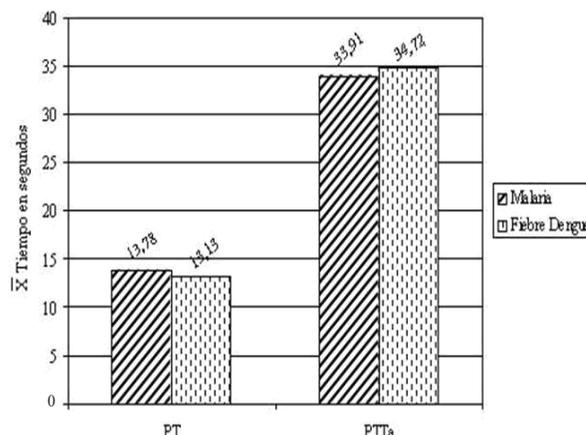


Fig 1. Variables hematológicas y hemostáticas en malaria y fiebre dengue. Comparación de valores promedio de tiempos de coagulación (PT, PTTa). Ambulatorios urbanos. Cumaná, estado Sucre. Abril a octubre 2003.

DISCUSIÓN

Las manifestaciones clínicas en la malaria y fiebre dengue son muy parecidas (Navarro, *et al.* 2003), esto se corroboró en ambos grupos de pacientes evaluados, donde se presentó gran similitud de signos y síntomas, lo que hace imprescindible realizar un diagnóstico de laboratorio para ayudar a diferenciar una enfermedad de otra.

El valor promedio de hemoglobina y hematocrito en los pacientes maláricos se encuentra disminuido, revelando un estado de anemia, que es provocada por invasión y ruptura de los eritrocitos por *P. vivax* (Homez *et al.* 1995; Crutcher y Hoffman, 1998). El valor relativo de reticulocitos es, en promedio, mayor para los pacientes con malaria (1,25%), debido a que en estos individuos se produce una anemia hemolítica autolimitada, pues este parásito tiene afinidad por eritrocitos jóvenes y reticulocitos, lo cual hace posible, que la compensación por parte de la médula ósea no sea tan marcada, y dicho valor a pesar de ser más elevado en comparación con los pacientes con fiebre dengue, se encuentra dentro de los valores de referencia (0,5–1,5%) (McKenzie, 1991; Pérez, 1995; Botero y Restrepo, 1998).

La leucopenia fue más acentuada en los pacientes con fiebre dengue, con apoyo estadístico ($p < 0,001$), la cual se atribuye a la acción del virus sobre las células precursoras, que deprime la leucopoyesis. Sin embargo, es conveniente mencionar que el 26,67% de los casos maláricos presentaron leucopenia, esto quizá es debido a procesos inmunitarios, o por el hiperesplenismo presente en dichos pacientes (Oh *et al.* 2001).

Los pacientes con malaria presentaron una neutrofilia relativa, la cual es el resultado del incremento en el flujo de neutrófilos del depósito de la médula ósea a la sangre, como reacción al proceso patológico. Los pacientes con fiebre dengue presentaron neutropenia relativa, la cual ocurre por la acción del virus sobre las células mielopoyéticas, y además se le atribuye la utilización y demanda de las células por la lesión tisular inducida por el virus (Pérez, 1995; Gascon *et al.* 1998).

El promedio del porcentaje de linfocitos fue mayor en los pacientes con fiebre dengue, hallándose una linfocitosis relativa, la cual es común en las infecciones virales. Estos resultados concuerdan con lo reportado para la fiebre dengue, donde se presenta leucopenia con tendencia a la linfocitosis (Finizola, 1998).

La comparación del porcentaje de segmentados eosinófilos entre ambas enfermedades, no presentó diferencias significativas para el momento en que fue tomada la muestra; es conveniente mencionar que la experiencia clínica indica, que en la fiebre dengue puede haber eosinofilia leve del sexto al séptimo día de evolución de la enfermedad, siendo esto indicativo de recuperación.

El promedio de la cuenta plaquetaria está disminuido en ambas enfermedades, existiendo una trombocitopenia leve para los pacientes con fiebre dengue y moderada en los pacientes con malaria. Según estudios realizados por Erel *et al.* (2001), en los pacientes maláricos existe un alto índice de destrucción de plaquetas periféricas, lo cual explica que las mismas se encuentren más disminuidas en estos pacientes, pero los mecanismos de destrucción, no están muy claros.

En los exámenes de médula ósea en pacientes con fiebre dengue, se ha informado una depresión del sistema megacariopoyético, lo cual indica que la trombocitopenia característica de la fiebre dengue se asocia con una disminución de los megacariocitos, además se sugiere que también pueda deberse a mecanismos inmunes que afectan a las plaquetas (González y Notario, 1999).

En esta investigación, hubo pacientes (30,67%) que mostraron leves prolongaciones en los tiempos de coagulación, no mayores a 0,50 segundos sobre el valor de referencia para el PT (12-14 s) y el PTTa (30-35 s), aunque dicha diferencia no fue considerada patológica y en promedio los valores se encontraron en el rango, es conveniente mencionar que los defectos de coagulación que se pueden presentar en algunos pacientes maláricos, puede deberse, a deficiencias de factores coagulantes o por insuficiencia hepática (Botero y Restrepo, 1998), mientras que los defectos de coagulación que se pueden presentar en los pacientes con fiebre dengue, puede deberse, a disminución de factores de la coagulación y ligero aumento de los productos de degradación del fibrinógeno-fibrina, debido a procesos inmunológicos, siendo más sensible a esto el PTTa, que detecta deficiencias funcionales de los factores II, V, X o del fibrinógeno (McKay y Margaretten, 1967; Mittrakul *et al.*, 1977).

CONCLUSIÓN

Las manifestaciones clínicas en los pacientes con malaria y fiebre dengue y las variables hematológicas y hemostáticas evaluadas, aunque mostraron diferencias estadísticas, resultaron similares y no permiten diferenciar una enfermedad de otra, sólo pueden ser orientadores, de allí que sea necesario un análisis confirmatorio de laboratorio para ratificar el diagnóstico de sospecha, por lo que se recomienda realizar gota gruesa y extendido a todo paciente febril con clínica presuntiva de malaria, y realizar pruebas de diagnóstico serológico (detección de anticuerpos contra antígenos específicos), luego del 5to día de fiebre, para poder establecer el diagnóstico definitivo de ambas enfermedades.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHÉ R. 1998. Situación Actual de la Malaria en Venezuela. Bol. Malariol. y San. Amb. 38(1):68-72.
- BAUER J. 1986. Análisis Clínicos, Métodos e Interpretación. Reverté, Barcelona-España. 1302 pp.
- BOTERO D. Y RESTREPO M. 1998. Parasitosis Humanas. Tercera Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín – Colombia. 457 pp.
- CRUTCHER J. & HOFFMAN S. "MALARIA". 1998. <<http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch083.htm>> (27 junio 2002).

- ENGLISH M. & NEWTON C. 2002. Malaria: Pathogenicity and Disease. *Chem. Immunol.* 80:50-69.
- EREL O., VURAL H., ASKOY N., ASLAN G. & ULUKANLIGIL M. 2001. Oxidative Stress of Platelets and Thrombocytopenia in Patients with Vivax Malaria. *Clin. Biochem.* 34(4):341-344.
- FINIZOLA F. 1998. Normas Básicas en el Manejo del Paciente con Fiebre Dengue, Dengue Hemorrágico y Dengue Shock. *Act. Cient. Venez.* 49(1):18-24.
- GASCON J., GINER V., VIDAL J., JOU J., MAS E. & CORACHAN M. 1998. Dengue: A reemerging Disease. A Clinical and Epidemiological Study in 57 Spanish Travelers. *Med. Clin.* 111(15):583-586.
- GONZÁLEZ X. Y NOTARIO M. 1999. Alteraciones de la Hemostasia en las Enfermedades Virales. *Rev. Cub. Hematol. Inmunol. Hemoter.* 15:21-24.
- HOMEZ J., SOTO R., DE SOTO S., MENDEZ H. Y MÁRMOL P. 1995. Parasitología. Octava Edición. Editorial de la Universidad del Zulia, Maracaibo. 374 pp.
- LAFERTÉ J., PELEGRINO J., GUZMÁN M., GONZÁLEZ G., VÁSQUEZ S. & HERMIDA C. 1992. Rapid Diagnosis of Dengue Virus Infection Using a Novel 10 µl IgM Antibody Capture UltramicroELISA Assay (MAC UMELISA Dengue). *Adv. Mod. Biotechnol.* 1:9.
- LÓPEZ F. (ed). 1985. Manual para el Diagnóstico Microscópico de la Malaria. Cuarta Edición. Publicación Científica. OPS-OMS. N° 276. Washington. 107 pp.
- MCKAY D. & MARGARETTEN W. 1967. Disseminated Intravascular Coagulation in Virus Disease. *Arch. Intern. Med.* 120:129-152.
- MCKENZIE S. 1991. Hematología Clínica. El Manual Moderno, México. 524 pp.
- MITRAKUL C., POSHYACHINDA M., FUTRAKUL P., SANGKAWIBHA N. & AHANDRIK S. 1977. Hemostatic and Platelet Kinetic Studies in Dengue Hemorrhagic Fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26(5):975-984.
- NAVARRO P., BÁEZ A., VERA Y., FIGUEIRA I., GARRIDO E., Y MARTÍN A. 2003. Paludismo como infección del viajero adquirido en el Estado Sucre. *Rev. Fac. Med. (Caracas).* 26(1):34-38.
- OH M., SHIN H., SHIN D., KIM U., LEE S., KIM N., CHOI M., CHOI J. & CHOE K. 2001. Clinical Features of Vivax Malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65(2):143-146.
- PEREIRA G. 2003. Dengue clásico ó dengue hemorrágico como problemas atuais de saúde coletiva no Mato Grosso do Sul, Brasil. Tesis para obtención del grado de Mestre. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 143 pp.
- PÉREZ J. 1995. Hematología. Tercera edición. Disinlimed, C.A. Caracas, Venezuela. 395 pp.
- PULIDO S. 1996. Sintomatología y Serología de Pacientes con Diagnóstico Clínico de Dengue que Acuden al Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá. Tesis de Grado. Departamento de Bioanálisis. UDO. Cumaná, Venezuela, 48 pp.
- SOKAL R. Y ROHLF J. 1979. Biometría principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. H. Blume ediciones, España-Madrid. 832 pp.
- ZABALA L. 2002. Comparación entre el Método Microscópico y una prueba de Inmuno cromatografía para el Diagnóstico de la Malaria para *Plasmodium* spp., en Pozo Colorado, Municipio Bermúdez, Estado Sucre. Trabajo de Pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 39 pp.