



Universidad De Oriente
Escuela De Ciencias De La Salud
“Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”
Departamento De Microbiología Y Parasitología
Sección Virología

**PREVALENCIA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL
VIRUS DEL DENGUE EN PACIENTES CON
SINTOMATOLOGÍA DE DENGUE**

ASESOR:

Dr. Gerardo Godoy

TRABAJO DE GRADO REALIZADO

POR:

Br. Hernandez Tineo, Elias Manuel

C.I. 17289810

Br. Rojas Castillo Lismar del Valle

C.I. 18012378

Como Requisito Parcial Para

Obtener El Título De Médico Cirujano

Ciudad Bolívar, Julio Del 2010



ÍNDICE

ÍNDICE	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	11
OBJETIVOS	12
Objetivo General	12
Objetivos Específicos	12
METODOLOGÍA	13
RESULTADOS	18
Tabla N°1	21
Tabla N°2	22
Tabla N°3	23
Tabla N°4	24
Tabla N° 5	25
Tabla N° 6	26
Tabla N°7	27
Tabla N° 8	28
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
APENDICE	38



AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro creador, ya que gracias a su trabajo divino hoy contamos con el don de la vida, por su compañía en todas nuestras travesías.

A nuestros familiares porque gracias a su apoyo incondicional hoy logramos esta meta.

Al Dr. Gerardo Godoy por su excelente desempeño como tutor de nuestro trabajo de grado, en el cual nos otorgo no solo formación académica sino también formación ética, humana y de nuevos valores.

A la Dra. Julman Cermeño por su apoyo desinteresado hacia nuestra formación científica y por la facilitarnos el equipo necesario para cumplir nuestros objetivos.

A las Licenciadas Angelica y Rosario, personal del laboratorio de Virología de la Universidad De Oriente, por su apoyo en el procesamiento de las muestras.

A la Dra. Dixie Guzman quien labora en el Departamento de Epidemiología del Ambulatorio La Sabanita, por su ayuda en la recolección de datos y muestras.

A la Universidad de Oriente por ser la casa que nos proporcionó el conocimiento para lograr culminar esta investigación, la cual solo es un punto y seguido en nuestras vidas.

Br. Hernandez J. Elias M. y Br. Rojas C. Lismar Del V.



DEDICATORIA

A Dios padre todo poderoso, por regalarnos cada minuto de vida, darnos fuerza para recorrer esta escuela que se llama vida y superar cada problema que vienes siendo lecciones.

A mi madre Haydee Tineo a quien le debo todo lo que soy, siempre estando presente dándome apoyo en cada paso de mi vida, y mas aun al convertirse en padre y madre desde mis 17 años.

A mi padre Elias M Hernández H (1954-2002) que a pesar de no estar presente físicamente estoy seguro que siempre vigiló y vigilará mis pasos desde allá arriba, porque me hizo entender desde la infancia que todo se logra con trabajo; y siempre debemos luchar por lo que creemos

A mis tíos Marcos Hernández y José Hernández por esos consejos acertados, y hacerme sentir que cuento que una excelente familia

A mi tía Cruz María que siempre inoculó en mi esa dosis de humildad que a todo médico no le debe faltar.

A Gabriela, mi novia, que al conocerla obtuve el tesoro maspreciado y grande durante mi carrera pues ella es mi inspiración y fuente de paz.

A el Dr. Gerardo Godoy por mostrarnos que en el mundo de la ciencia no hay límites, y con su paciencia guiarnos en el desarrollo de este proyecto.

A mi compañera de tesis, amiga y luchadora de mil batallas por brindarme su amistad incondicional.

Dr. Hernández J. Elias M.



DEDICATORIA

Primeramente, a Dios, que siempre ilumina mi camino, por darme una familia tan maravillosa, por darme la fé, la fortaleza y salud suficiente para alcanzar mi meta y culminar este trabajo.

A mis padres, Liz y Douglas, a quienes debo todo lo que soy. Este logro es de ustedes, gracias por su inmenso amor, por hacerme enormemente feliz, por brindarme su apoyo en todas mis decisiones, por creer en mi desde el primer momento que decidí iniciar esta carrera.

A mis hermanos, Ivan y Douglas, por ser mis amigos incondicionales, por brindarme su amor y todo su apoyo.

A mis abuelos por todo su amor y sus valiosos consejos.

A mi tío Rafael, por estar siempre allí, y sin importar la hora llevarme a donde sea, y por sus bonitos consejos para que seamos mejor cada día.

A Angel, mi novio, tu amor es la motivación que siempre me lleva a pensar el alto y lograr cosas que creí imposibles de alcanzar, gracias por tus consejos, tu apoyo y tu ayuda para lograr culminar este trabajo.

Al Dr. Gerardo Godoy, por todas sus enseñanzas académicas, éticas y humanas aportadas a lo largo de la realización de esta investigación, por dedicarnos gran parte de su valioso tiempo sin importar día y hora.

A mi compañero de tesis, por su bella amistad y los momentos bonitos vividos a lo largo de nuestra carrera.

Dr. Rojas C. Lismar del V.



RESUMEN

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL VIRUS DEL DENGUE EN PACIENTES CON SINTOMATOLOGÍA DE DENGUE

Br. Lismar del Valle Rojas Castillo

Br. Elias Manuel Hernandez Tineo

El dengue, enfermedad febril aguda causada por virus del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*, transmitida por mosquitos del género *Aedes*. Es la enfermedad viral transmitida por artrópodos de mayor importancia, constituye una prioridad de salud pública en países tropicales y subtropicales. El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus del dengue en el suero de pacientes con sintomatología de Dengue que acudieron al ambulatorio La Sabanita, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar. A cada paciente, luego de completar el registro de identificación, se le tomo una muestra de sangre periférica que fue analizada mediante el test Dengue IgG Capture ELISA y Dengue IgM Capture ELISA (Panbio, Inverness Medical Innovaciones Australia). De 100 muestras de sangre colectadas, 36% resultaron tener niveles serológicos positivos de anticuerpos IgG contra el virus del dengue, 42% para anticuerpos IgM y 28% resultaron positivas para anticuerpos IgG e IgM concomitantemente. Los grupos etareos de 1-10 años y 11-20 años presentaron la mayor prevalencia de anticuerpos contra el virus del Dengue. El sexo más afectado fue el masculino. Los pacientes con infección primaria y activa por el virus del Dengue en su mayoría fueron positivos luego del quinto día con fiebre. Un elevado porcentaje de pacientes con anticuerpos neutralizantes IgM positivos presentaron manifestaciones hemorrágicas (42.9%). Los signos y síntomas más frecuentes fueron fiebre y cefalea.

Palabras claves: *dengue, anticuerpos, prevalencia, sintomatología, Estado Bolívar.*



INTRODUCCIÓN

El dengue, como enfermedad fue descrita por primera vez en el siglo XVIII, pero el agente causal fue aislado en 1.944. Entre 1.944 y 1.956 se demostró que cuatro virus distintos, denominados virus del dengue tipo 1 a 4, eran responsables del síndrome clínico (Monath y Tsai, 2002).

De las enfermedades virales transmitidas por artrópodos, el dengue es la de mayor importancia y constituye una prioridad de salud pública en los países tropicales y subtropicales. A escala mundial, la incidencia y las epidemias de dengue han aumentado exponencialmente en los últimos 35 años. En el período de 1.970 a 1.998, el número de casos de dengue se cuadruplicó, hasta alcanzar la cifra máxima de 1,3 millones, con más de 3.600 muertes. Actualmente, el dengue es endémico en más de 100 países del Sudeste Asiático, el Pacífico Occidental, América, África y el Medio Oriente (Guzmán et al., 2006).

El dengue, enfermedad febril aguda causada por virus del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*, con cuatro serotipos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4), es transmitida por mosquitos del género *Aedes* (Restrepo et al., 2008). Similar a otros *flavivirus*, el virión maduro del dengue consiste en un filamento único de genoma ARN rodeado por una nucleocápside icosaédrica o isométrica de aproximadamente 30 nm de diámetro. Esta nucleocápside está cubierta por una envoltura lipídica de unos 10 nm de espesor. El virión completo tiene alrededor de 50 nm de diámetro (Henchal y Putnak, 1990).

La propagación del dengue se atribuye a la expansión geográfica de los cuatro serotipos y sus mosquitos vectores, el más importante de los cuales es *Aedes aegypti*, especie predominantemente urbana, a su vez el vector más prevalente del mundo



(Guzmán et al., 2006). Esta especie, altamente antropofílica, en ocasiones puede alimentarse de la sangre de otros animales. Es muy adaptable a la vida urbana por sus hábitos domésticos. Ponen sus huevos preferiblemente en agua limpia y estancada, ya sea en depósitos naturales o artificiales. Su capacidad de vuelo es corta, generalmente limitada a las habitaciones y sus alrededores (Tibaire, 2001).

Solo la hembra de *Aedes aegypti* tiene hábitos hematófagos, que se exacerbaban durante el ciclo gonadotrófico, y se asocia con la necesidad de una dieta rica en proteínas para la ovogénesis. Cuando la hembra se alimenta de un enfermo se infecta, y a los 8 - 12 días se torna infecciosa, período que se define como "período de incubación extrínseco". Además, ocurre transmisión tras-ovárica, lo que significa que las nuevas generaciones permanecerán infectadas. El virus del dengue se replica en las glándulas salivales del mosquito y la infección avanza e involucra el sistema nervioso, afectando su capacidad para alimentarse, ello le obliga a aumentar el tiempo que debe permanecer succionando sangre, período en el cual pueden ocurrir interrupciones causadas por el hospedero, que llevan a alimentaciones interrumpidas en varios hospederos, aumentando la probabilidad de transmisión de la virosis (Hernández y García, 2000).

En áreas rurales, en algunas partes del mundo, *Aedes albopictus* juega un rol secundario en la transmisión interhumana del dengue. En Nepal, investigaciones entomológicas desde el año 1980 han demostrado la presencia de *Aedes albopictus* en las planicies de Terai, sin embargo, en 2006 se demostró que también *A. aegypti* es endémico en esa región (Anónimo, 2008). La transmisión vertical del virus del Dengue en *A. aegypti* y en *Aedes spp.* selváticos ha sido documentada y probablemente contribuye al mantenimiento viral (Monath y Tsai, 2002).

Debido a la ausencia de una vacuna eficaz, el control de la transmisión del virus requiere del esfuerzo conjunto de toda la sociedad, para combatir al vector. Dada la



extraordinaria capacidad de adaptación de *Aedes aegypti* al ambiente, esta tarea no siempre arroja resultados previsibles (Portela et al., 2007).

La infección por el virus del dengue produce una gama de manifestaciones clínicas, que van desde infecciones asintomáticas y sintomáticas leves, conocidas como Fiebre Dengue (FD), hasta formas de enfermedad severa que con frecuencia tienen un resultado mortal y se conocen como Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) y Síndrome de Shock por Dengue (SSD) (Souza et al., 2007)

La FD, enfermedad bifásica benigna, de comienzo abrupto después de un período de incubación que oscila entre 3-15 días, generalmente 8 días. Se caracteriza clínicamente por la presencia de fiebre, cefalea, malestar general severo, dolores musculares, articulares y óseos generalizados. Después de 6- 8 días de evolución reaparece la fiebre y aparece una erupción similar a la del sarampión, linfadenopatías generalizadas y, en ocasiones, fenómenos hemorrágicos menores. No hay casos fatales y la enfermedad puede resolverse en la segunda semana, aunque los pacientes pueden presentar una convalecencia prolongada, con debilidad y depresión (Tibaïre, 2001).

La FHD, está definida por un incremento en la permeabilidad vascular, manifestaciones hemorrágicas y disminución de los niveles plaquetarios, que coinciden con la disminución o desaparición completa de la fiebre. La FHD puede progresar a SSD, el cual está asociado con hipotensión y signos clínicos de choque (Balsameda et al., 2006). Sin tratamiento, el SSD puede ocasionar la muerte; afortunadamente, la hospitalización, la hidratación adecuada y una buena atención en general pueden reducir la mortalidad de cerca de 20% a menos de 1% (Mongkolsapaya et al., 2003)



Un aspecto del dengue, que por mucho tiempo ha intrigado a la comunidad científica, es el hecho de que la mayor parte de los casos de FHD ocurren en personas que ya han tenido dengue anteriormente. Esto es lo contrario de lo que sucede en el caso de la mayoría de las infecciones víricas, cuyas peores manifestaciones clínicas se producen en un primer episodio, que confiere inmunidad (Mongkolsapaya et al., 2003)

Científicos a nivel mundial han desarrollado modelos experimentales para tratar de explicar por que unos pacientes si y otros no pueden desarrollar FD o FDH. La primera teoría, se basa en la infección secuencial y describe que, si una persona ha sido infectada en una primera oportunidad por un serotipo del virus del dengue, queda protegido contra ese serotipo, pero no contra los otros serotipos. En una infección secundaria o terciaria los anticuerpos de la primera infección, facilitan el ataque de estos segundos virus infectantes hacia los monocitos, donde se multiplicarán en gran cantidad, empobreciendo la membrana celular, lo que ocasiona salida de sustancias vasoactivas, que llevan al aumento de la fragilidad capilar y por ende, ocasionan salida del plasma al espacio extravascular. La segunda teoría, explica que hay serotipos de virus muy agresivos cuya virulencia se potencia en los pases sucesivos del mosquito al hombre y del hombre al mosquito, ocasionando FHD y SSD que pueden llevar a la muerte en la primera infección que sufra una persona (OPS/OMS, 2001).

Investigadores en Oxford, Inglaterra, realizaron un estudio en 73 niños Tailandeses que estaban hospitalizados por FD, de los cuales todos, excepto dos, ya habían tenido por lo menos un episodio anterior de la enfermedad. Todos los niños tenían concentraciones bajas de linfocitos T contra el virus infectante. Los linfocitos T que fueron detectados mostraban mayor afinidad por otras cepas de virus del dengue, muy probablemente las que habían producido infecciones anteriores. Los investigadores concluyeron que al reinfectarse por un subtipo vírico diferente del que



produjo la infección inicial, el organismo reacciona con intensa actividad inmunitaria contra el virus equivocado. Dicha actividad inmunitaria produce, a su vez, una fuerte reacción inflamatoria con dolores, malestar general y fiebre, pero carece de eficacia contra el nuevo subtipo vírico infectante. Ello se traduce en una enfermedad más prolongada y en síntomas más intensos que los observados durante un primer episodio de dengue (Mongkolsapaya et al., 2003).

Con relación a los factores de riesgo de las formas graves de dengue, se demostró que las personas con enfermedades crónicas como asma bronquial, diabetes mellitus y drepanocitosis, tienen una mayor probabilidad de contraer dengue hemorrágico. Un aporte novedoso es que la forma hemorrágica se ha observado en Cuba predominantemente en personas de la raza blanca. La edad entre los 3 y 14 años también es un factor de riesgo (Guzmán, 2005).

Los linfocitos T contra el virus del dengue provocan una copiosa producción de citocinas, y estas además, pueden inducir la liberación de otras citocinas y tener un efecto sinérgico. Estudio inmunopatológico de pacientes de dengue, sugiere que quizás las citocinas y no los virus son las responsables del daño que sufren las células endoteliales durante el FHD. Así mismo se ha propuesto que la activación del complemento es clave en la inmunopatogenia de FHD/SSD. Se han sugerido otros mediadores como histamina o el factor inhibidor de la migración macrofágica. En fin, todos estos avances y teorías ponen de relieve que la patogenia del FHD/SSD es un proceso multifactorial, muy complejo, que implica la circulación simultánea de varios serotipos de dengue y la interacción entre el hospedero y los factores víricos que determinan la gravedad de la enfermedad (Pang et al., 2007).

Estudios realizados por el Instituto Pedro Kouri (IPK) de la Habana, han demostrado que los casos graves pueden ocurrir aun habiendo transcurrido varias décadas entre la infección inicial por el virus del dengue tipo 1 y la infección



secundaria por el virus tipo 2. Eso significa que una vacuna realmente eficaz debe proteger contra los cuatro serotipos de dengue a largo plazo, ya que de lo contrario, la propia vacuna podría sensibilizar a los vacunados y provocar dengue hemorrágico grave ante una infección secundaria por un serotipo diferente (Guzmán, 2005).

El diagnóstico de laboratorio del dengue se basa fundamentalmente en el aislamiento viral y en las técnicas serológicas. El desarrollo de la biología molecular ha permitido el estudio del ARN viral. El virus del dengue se encuentra entre los arbovirus más difíciles de detectar y propagar, ya que no se multiplica con facilidad en cultivos celulares o en animales de laboratorio. También pueden influir la presencia de complejos antígeno-anticuerpo (infección secundaria) en muestras clínicas mal procesadas y la poca cantidad de virus viables en el inóculo. Por estas razones se utiliza más el diagnóstico serológico que el virológico (Tibaïre, 2001 b).

El diagnóstico serológico del virus del dengue también es complicado, por la existencia de reacciones cruzadas entre determinantes antigénicos compartidos por los cuatro serotipos del virus del dengue y miembros de la familia *Flaviviridae* (Henchal y Putnak, 1990). Rutinariamente se han usado cinco pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por dengue: Inhibición de la hemaglutinación, fijación del complemento, test de neutralización, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima con captura de Inmunoglobulina M (MAC-ELISA), y ELISA inmunoglobulina G indirecta. Prescindiendo de las pruebas utilizadas, el diagnóstico serológico inequívoco depende de un significativo ascenso (cuatro veces o más) en los títulos de anticuerpos específicos entre las muestras de suero colectado en fase aguda y de convalecencia (Gubler, 1998).

Las primeras epidemias de dengue reportadas datan de 1.779-1.780 en Asia, África y América del Norte. Se dieron grandes intervalos (10-40 años) entre las epidemias más importantes, principalmente porque la introducción de un nuevo



serotipo en una población susceptible se daba solamente si los virus y su mosquito vector podían sobrevivir el lento transporte en veleros, entre los centros poblados. Después de la Segunda Guerra Mundial, comenzó una epidemia de dengue en el Sureste Asiático que, desde entonces, se ha venido propagando por el resto del mundo (CDC, 2008).

Para 1.970, en América solo estaba presente DEN-2. En esta misma época, DEN-3 tenía una distribución focal en Colombia y Puerto Rico. En 1.977 se introduce DEN-1, que tuvo como consecuencia una pandemia en la región durante un periodo de 16 años. En 1.981 se introduce DEN-4, causando epidemias, principalmente en el Caribe (Tibaire, 2001).

En el Caribe, se han reportado varias epidemias graves de dengue, incluyendo las de Cuba en 1.977, con 477.440 casos de DEN-1, luego en 1.981, surge una epidemia de dengue hemorrágico con 344.000 casos de DEN-2 y 158 muertos, de los cuales 101 fueron niños, lo que nos habla de la gravedad con que pueden presentarse estos brotes y el gran daño económico y social que pueden causar (OPS, 2007).

Una cepa, también de origen Asiático, se expandió rápidamente por la región y causó brotes epidémicos de FHD, 8 años después de la primera epidemia de FHD, en Venezuela, Colombia, Brasil, Guyana Francesa, Surinam y Puerto Rico. Para 1.997, 18 países de América habían reportado casos confirmados de FHD, que ahora es endémica en muchos de esos países (Tibaire, 2001).

El virus DEN-3 reapareció en el continente Americano tras una ausencia de 16 años. Este serotipo se detectó por primera vez en asociación con una epidemia de Dengue y Dengue hemorrágico en Nicaragua, en 1.994. De manera casi simultánea se confirmó la presencia de DEN-3 en Panamá y, a principio de 1.995 en Costa Rica (CDC, 2008).



Los datos sobre la secuencia genética de la envoltura del virus de las cepas DEN-3 aisladas en Panamá y Nicaragua han mostrando que, esta nueva cepa Americana del virus probablemente vino de Asia, pues es genéticamente distinta de la cepa DEN-3 que había detectado previamente en el continente americano. Según parece indicar el descubrimiento de una nueva cepa de DEN-3 y la susceptibilidad de la población en la regiones tropicales americanas a esta cepa, DEN-3 se propagó rápidamente en toda la región y causó grandes epidemias de Dengue y Dengue hemorrágico en América Central en 1.995 (CDC, 2008).

En Venezuela, el orden de aparición de los serotipos del virus del dengue, se inicia en 1963, cuando se presentó una epidemia de dengue confirmada por laboratorio, demostrándose más de 18.000 casos por el serotipo DEN-3. Posteriormente, en 1978, se reportaron 100.000 casos de dengue, estimándose que el número real fue de 500.000 a 600.000 casos en esa oportunidad, con la primera demostración y aislamiento de DEN-1. En 1984, se aisló el serotipo DEN-2 y en 1985, DEN-4, ambos por primera vez en Venezuela (OPS, 2001).

Entre noviembre de 1.989 y marzo de 1.990 se desarrolló una nueva epidemia de dengue en Venezuela, reportándose un total de 12.200 casos, de los cuales 3.108 fueron FHD, con un total de 73 muertes, siendo la mayor morbilidad en menores de 15 años. Las regiones con mayor incidencia de dengue fueron el Distrito Capital, y los estados Aragua, Barinas, Falcón y Zulia. Fueron aislados los virus dengue: DEN-1, DEN-2 y DEN-4 (Caraballo, 1991).

A pesar de su impacto en salud pública, falta mucho por conocer de la fisiopatología de esta enfermedad, su ecología, su genómica y el efecto de los cambios evolutivos en el mismo, por lo tanto es una emocionante y propicia área de investigación, para ayudar a responder las interrogantes existentes sobre su inmunopatogénesis, y como herramienta para acelerar el desarrollo de estrategias



terapéuticas como la esperada vacuna tetravalente costo-efectiva, que esté disponible en corto tiempo en todos los países afectados por este virus (Añez, 2007).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), han establecido cuatro elementos básicos o principios necesarios para controlar el dengue. Ellos son la voluntad política de los gobiernos, la coordinación intersectorial, la participación activa de la comunidad y el fortalecimiento de las leyes sanitarias nacionales (Kourí, 2006).

La OPS reportó para Venezuela un total de 48.048 casos de dengue en el año 2008, de los cuales 3.649 corresponden a FHD/SSD (OPS, 2008). Para el año 2009, las cifras reportadas de dengue fueron de 64.721 casos (RSCMV, 2010). Hasta la semana epidemiológica n°30, del año 2010, el número de casos acumulados es de 68.753 casos de dengue, de los cuales 6.418 son FHD/SSD (MPPPS, 2010).

En el estado Bolívar, el Instituto de Salud Pública, reportó 1.748 casos de dengue, con 4 casos de dengue hemorrágico, para el año 2008. El municipio Caroní es el más afectado, con 1.187 casos, seguido del municipio Cedeño con 168 casos, y en tercer lugar se encuentra el municipio Heres con 158 casos (ISP, 2008).

En nuestra localidad, municipio Heres, conformado por 10 parroquias, concentra el mayor número de casos en la parroquia La Sabanita con 61 casos de dengue, seguido por la parroquia Vista Hermosa que presentó 33 casos, para el año 2008. En conjunto, estas dos parroquias, representan el 63% de la morbilidad por dengue en este municipio (ISP, 2008).

El dengue en la actualidad está impactando a los países latinoamericanos, y Venezuela no ha sido la excepción, caracterizada por ser una región hiperendémica por la múltiple circulación de los serotipos. El conocimiento de serotipos circulantes,



así como la secuencia de infección, es de gran ayuda, se han relacionado serotipos específicos con cuadros sintomáticos, severos y con predisposición a manifestaciones hemorrágicas.

Esta investigación se propone determinar la prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus del dengue en el suero de pacientes con sintomatología de dengue que acuden al ambulatorio La Sabanita II, que presta servicio a gran parte de la población de la parroquia La Sabanita, de Ciudad Bolívar.



JUSTIFICACIÓN

Los cambios climáticos observados durante los últimos años en el planeta han repercutido en forma sustancial en la modificación de los nichos ecológicos donde se desarrollan muchas de las enfermedades infecciosas, principalmente las transmitidas por vectores, lo que plantea el riesgo de incremento en la ocurrencia de dengue.

La enfermedad del dengue tiene una amplia distribución mundial, con elevada morbilidad entre las poblaciones humanas en América, ya que ocurrió un incremento de los casos comunicados durante los últimos años, con un considerable número de casos de dengue hemorrágico y muertes por esta causa, constituyendo un problema de salud pública, por las características hiperendémicas y la cocirculación de múltiples serotipos.

Venezuela, no escapa a esta situación, en los últimos años se ha presentado un número considerable de casos de FD, FHD y SSD, situación que ha ameritado la habilitación de nuevas políticas de salud. En el estado Bolívar, el municipio Heres, es el tercero con más casos de infección por virus del dengue registrados después de los municipios Caroní y Cedeño, siendo la parroquia La Sabanita la más afectada.

La determinación anticuerpos de neutralizantes del virus del Dengue en pacientes con sintomatología de Dengue que acuden ambulatorio La Sabanita II, mediante la titulación de IgG e IgM, permitirá conocer antecedentes de infección por el virus del Dengue e infección activa respectivamente, y de esta manera evaluar la vulnerabilidad de una población a presentar brotes de dengue, FHD y SSD.



OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus del dengue en el suero de pacientes con sintomatología de dengue.

Objetivos Específicos

- Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG en el suero de los pacientes con sintomatología de dengue.
- Determinar la prevalencia de anticuerpos IgM en el suero de pacientes en quienes previamente se detectó la presencia de anticuerpos IgG.
- Demostrar la presencia de anticuerpos neutralizantes contra los serotipos del virus del dengue en el suero de pacientes en quienes previamente se detectó la presencia de anticuerpos IgM,
- Identificar la presencia de anticuerpos neutralizantes contra varios serotipos simultáneamente en el suero de pacientes en quienes previamente se detectó la presencia de anticuerpos IgM.
- Relacionar serotipos identificados en el suero, con los signos y síntomas clínicos que motivaron la consulta del paciente.
- Determinar la prevalencia de anticuerpos contra el virus del dengue discriminando sexo y grupo etario.
- Relacionar los días de antecedente febril y la presencia de anticuerpos contra el virus del dengue.
- Determinar la prevalencia de pacientes con infección activa y manifestaciones hemorrágicas.
- Identificar las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes.



METODOLOGÍA

Método:

Se trata de un estudio no experimental, descriptivo, transversal, para determinar la presencia de anticuerpos neutralizantes contra los serotipos de virus del dengue en pacientes que acuden al ambulatorio La Sabanita con fiebre de 2 a 7 días de duración y con dos o más de los siguientes síntomas: cefalea, dolor retroorbitario, mialgias, artralgias y rash.

Consentimiento informado

A cada paciente incorporado al estudio, se le informó sobre importancia que tiene el análisis de la muestra de sangre, cuya toma no representa ningún riesgo a su salud. Los resultados obtenidos de la investigación serán del conocimiento del paciente y de su médico, quien los adjuntará a su historia clínica. La participación de cada paciente fue voluntaria y gratuita, firmando, en presencia de una persona testigo, su aceptación en una hoja especial de participación voluntaria en el estudio (ver anexo n°1).

Reactivos

Dengue IgG Capture ELISA (Panbio) y Dengue IgM Capture ELISA (Panbio).
Fabricados por Inverness Medical Innovaciones Australia Pty Ltd (532 Seventeen Mile Rocks Road, Sinnamon Park Brisbane QLD 4073 Australia).



Muestra

A cada paciente, luego de completar el registro de identificación y antecedentes médicos que motivaron su consulta (ver anexo n°2) se le tomó muestra de sangre (2-5 ml). La muestra se depositó en tubo estéril, sin anticoagulante, adecuadamente identificado con números correspondiente a su historia clínica y registro de identificación. La muestra se dejó a temperatura ambiente para procesarla en las siguientes 4 a 6 horas. Cuando no fue así, se guardó a temperatura de refrigerador para procesarla de 12 a 14 horas mas tarde. El suero sobrenadante al coágulo distribuido en alícuotas de 0.5 ml, se guardó, bien identificado con número y fecha, a -80°C hasta su procesamiento.

Fundamento de la técnica

Dengue IgG Capture ELISA (Panbio, Inverness Medical Innovaciones Australia) permite detectar cualitativamente anticuerpos IgG contra virus dengue (serotipo 1-4). Esta prueba esta propuesta como ayuda en el diagnóstico clínico de laboratorio de infección por virus del dengue, y puede ser usada en conjunto con Dengue IgM Capture ELISA (Panbio) para diferenciación presuntiva entre infección primaria y secundaria. Consiste en placas de microtitulación sensibilizadas con inmunoglobulina anti IgG humana que reaccionará con anticuerpos séricos tipo IgG específicos contra el virus, presentes en la muestra del paciente. Se adiciona un complejo de inmunoglobulinas anti virus dengue acopladas a la enzima peroxidasa, que se ha puesto previamente en contacto con antígeno de virus del dengue. Posteriormente se añade el sustrato (tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno), el peróxido es degradado por la enzima generando una reacción cromógena, azul al principio y ulteriormente amarilla que indica presencia de anticuerpos IgG anti dengue en la muestra evaluada. Un nivel elevado de IgG (mayor de 22 Unidades Panbio) es indicativo de infección secundaria por virus del dengue.



Dengue IgM Capture ELISA (Panbio, Inverness Medical Innovaciones Australia) se utiliza para detección cualitativa de anticuerpos tipo IgM contra virus del dengue, contribuye en el diagnóstico clínico de laboratorio en pacientes con síntomas compatibles con FD. El fundamento de esta técnica es similar al equipo Dengue IgG Capture ELISA (Panbio). Un nivel elevado de IgM (mayor de 11 Unidades Panbio) es indicativo de infección activa o reciente por virus del dengue.

Procedimiento de la técnica

Antes de iniciar el análisis con el equipo Dengue IgG Capture ELISA (Panbio), debe comprobarse que todos los reactivos se encuentran a temperatura ambiente.

- Preparación de la muestra: Usando placa de microtitulación, se diluyen el control negativo, control reactivo, calibrador y suero del paciente, de la forma siguiente:

- 1) Agregando 1000 μ l de diluyente de suero por cada 10 μ l de suero y mezclar.

- 2) Alternativamente, a 10 μ l de suero agregar 90 μ l de diluyente, a continuación tomar 20 μ l de suero diluido y agregar 180 μ l de diluyente y mezclar.

- Procedimiento ELISA:

1. Estabilización de viales antígeno: Tomar el antígeno liofilizado y reconstituir cada envase con 1 ml de amortiguador de reconstitución de antígeno. Mezclar suavemente para asegurar que el antígeno está disuelto.

2. Remover el volumen requerido de antígeno reconstituido y mezclar con un volumen igual de marcador de anticuerpo monoclonal en envase transparente o envase de plástico y mantener por una hora a temperatura ambiente hasta ser requerido.

3. Placa de ensayo: usando pipeta de 100 μ l, colocar sueros diluidos, de pacientes y controles, en su respectiva microplaca. Cubrir la placa e



incubar por 60 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Lavar en 6 tiempos con el amortiguador de lavado diluido.

4. Mezclar la solución de marcador de anticuerpo monoclonal-antígeno. Usando pipeta de $100\mu\text{l}$, transferir esta solución a la celda apropiada de la placa de ensayo. Cubrir la placa e incubar por 60 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Lavar en 6 tiempos con el amortiguador de lavado diluido.

5. Colocar Peróxido Tetrametilbenzidina (TMB) con pipeta de $100\mu\text{l}$, dentro de cada celda. Incubar por 10 minutos a temperatura ambiente, tiempo desde la primera adición (deberá aparecer color azul).

6. Detener la reacción, añadiendo solución de parada con pipetas de $100\mu\text{l}$, para todas las celdas en la misma secuencia y tiempo de la adición del TMB. Mezclar bien (el color azul cambiará a amarillo).

7. A los 30 minutos leer en fotómetro automatizado (Anthos 2010, software versión 1.7, Anthos labtec instruments Ges.m.b.H. Lagerhausstrabe. Austria) la absorbancia de cada celda con una longitud de onda de 450nm , y filtro de referencia de $600-650\text{nm}$.

▪ Cálculo de unidades Panbio:

Valor de corte = promedio de absorbancia del calibrador x factor calibración

Valor índice = absorbancia de la muestra / valor de corte

Unidades Panbio = valor índice x 10

▪ Interpretación de resultados:

<18 unidades Panbio: negativo

18-22 unidades Panbio: equivocado (debe repetirse el estudio)

>22 unidades Panbio: positivo

Los sueros positivos a la prueba Dengue IgG Capture ELISA (Panbio), serán analizados con el equipo Dengue IgM Capture ELISA (Panbio). El procedimiento de



la técnica con este equipo es similar a Dengue IgG Capture ELISA (Panbio) y la interpretación de los resultados es la siguiente:

<9 Unidades Panbio: negativo

9-11 Unidades Panbio: equivocado (debe repetirse el estudio)

>11 Unidades Panbio: positivo

A los sueros positivos a la prueba Dengue IgM Capture ELISA (Panbio), se realizará la detección de anticuerpos neutralizantes contra el serotipo específico de virus del dengue responsable de la infección.



RESULTADOS

El estudio consistió en el análisis de 100 muestras de sangre periférica colectadas de pacientes con sintomatología sugestiva de Dengue. Del total de muestras, 36% resultaron tener niveles serológicos positivos de anticuerpos IgG contra el virus del dengue, 42% de las mismas muestras resultaron positivas para anticuerpos IgM contra el virus del dengue y 28% demostraron tener niveles serológicos positivos para anticuerpos IgG e IgM simultáneamente (Ver Tabla N°1).

La población estudiada comprendió grupos etarios, los cuales al ser distribuidos por grupos de 10 años, desde 1 a 70 años, presentó una mayor prevalencia de casos positivos, tanto para IgG, IgM y ambas inmunoglobulinas simultáneamente, en el grupo de 1-10 años, seguido del grupo 11-20 años. El grupo con menor prevalencia de anticuerpos antiviral del Dengue fue el de 31-40 años, leer tabla N°2.

La distribución de la población estudiada según el sexo, comprendió 59 pacientes del sexo masculino y 41 pacientes del sexo femenino. Se evidenció que del total de pacientes positivos para IgG contra el virus del Dengue, 56% corresponden al sexo masculino y 44% al sexo femenino; para IgM contra el virus del Dengue, 60% corresponden al sexo masculino y 40% al sexo femenino; del total de pacientes positivos para IgG e IgM simultáneamente; 57% corresponden al sexo masculino y 43% al sexo femenino como se observa en la tabla N°3.

Los pacientes fueron clasificados según el antecedente febril registrado al momento de la toma de la muestra, en aquellos con <5 días febriles y >5 días febriles, evidenciándose que la mayoría de pacientes positivos a anticuerpos IgG para el virus del Dengue fueron aquellos que aseveraron fiebre antes del quinto día febril, en contraste con los pacientes con anticuerpos IgM contra el virus del Dengue quienes



resultaron positivos en su mayoría a partir del quinto día con fiebre. En los pacientes con anticuerpos IgG e IgM positivos se evidenció un porcentaje similar de positividad tanto antes como después del quinto día con fiebre como se expresa en la Tabla N°4.

Al clasificar los pacientes estudiados que resultaron positivos para anticuerpos tipo IgM contra el virus del Dengue, según la presencia o no de manifestaciones hemorrágicas, se evidenció que el 57.1% de los pacientes presentaron fiebre dengue, y aquellos pacientes con fiebre dengue con manifestaciones hemorrágicas constituyeron el 42.9% (Ver Tabla N°5).

Las manifestaciones hemorrágicas que se presentaron con mayor frecuencia en este grupo de pacientes fueron petequias (61.1%), y equimosis (33.3%) como se puede evidenciar en la Tabla N°6.

Aquellos pacientes positivos con positividad concomitante a anticuerpos neutralizantes IgG e IgM presentaron como signos y síntomas predominantes fiebre (96.4%), cefalea (82.1%), dolor retroocular (67.9%), seguido de náuseas y vómitos (60.7%), artralgias y mialgias (57.1%), escalofríos (53.6%), El resto de los signos y síntomas se manifestaron con una frecuencia menor al 50%. Merece mención especial la baja frecuencia de síntomas hemorrágicos como petequias, equimosis, epistaxis, metrorragia, melena, gingivorragia y hematuria. Como se denota en la Tabla N°7.

La población con anticuerpos neutralizantes tipo IgG contra el virus del Dengue, presentó un predominio de cefalea (87.5%) con respecto a la presencia de fiebre (75%), seguidos de dolor retroocular (75%), mialgias (75%), náuseas y vómitos y escalofríos (62.5%), artralgias (50%) y se observa un aumento de la presencia de dolor abdominal (50%) en este grupo de pacientes. La presencia de manifestaciones hemorrágicas como equimosis, hemoptisis, melena y epistaxis representó un 12.5% (Tabla N°7).



La totalidad de pacientes con anticuerpos IgM contra el virus del Dengue presentaron fiebre (100%), seguido de cefalea (92.3%), nauseas y vómitos (84.6%), artralgias (69.2%), con un aumento notable en la presencia de petequias (69.2%) y en otras manifestaciones hemorrágicas como equimosis (30.8%), hemoptisis (23.1%), y hematuria (15.4%) constatándose en Tabla N°7

La población infantil estudiada, menores de 13 años, quienes presentaron manifestaciones clínicas predominantes de fiebre (100%), cefalea (78.2%), dolor retroocular (69.5%), nauseas y vómitos (65.2%) y erupción (65.2%) (Ver Tabla N°8).



Tabla N°1

Distribución de la población de acuerdo a la presencia de anticuerpos contra el virus del Dengue.

ANTICUERPOS PARA DENGUE	ANTICUERPOS IgG (%)	ANTICUERPOS IgM (%)	ANTICUERPOS IgG-IgM (%)
POSITIVO	36	42	28
NEGATIVO	64	58	-
TOTAL	100	100	-



Tabla N°2

Presencia de anticuerpos contra virus del Dengue según el grupo etario.

ANTICUERPOS PARA DENGUE				
EDAD	ANTICUERPOS IgG (%)	ANTICUERPOS IgM (%)	ANTICUERPOS IgG-IgM (%)	TOTAL
1-10	13	20	13	46
11-20	9	12	6	27
21-30	8	6	6	20
31-40	0	1	0	1
41-50	2	1	1	4
51-60	2	1	1	4
61-70	2	1	1	4
TOTAL	36	42	28	-



Tabla N°3

Proporción de pacientes de acuerdo al sexo y la presencia de anticuerpos contra virus del Dengue.

ANTICUERPOS PARA DENGUE						
SEXO	ANTICUERPOS	%	ANTICUERPOS	%	ANTICUERPOS	%
	IgG		IgM		IgG-IgM	
MASCULINO	20	56	25	60	16	57
FEMENINO	16	44	17	40	12	43
TOTAL	36	100	42	100	28	100



Tabla N°4

Comparación del antecedente de fiebre al momento de la toma de muestra y la presencia de anticuerpos contra el virus del dengue.

DIAS FEBRILES	N°	ANTICUERPOS IgG	ANTICUERPOS IgM	ANTICUERPOS IgG-IgM
<5 días	42	19	18	15
>5 días	58	17	24	14

**Tabla N° 5****Formas clínicas en pacientes positivos para IgM contra el virus del Dengue.**

DIAGNOSTICO	N°	%
FIEBRE DENGUE	24	57,1
FIEBRE DENGUE CON MANIFESTACIONES HEMORRAGICAS	18	42,9
TOTAL	42	100



Tabla N° 6

Manifestaciones Hemorrágicas más frecuentes en los pacientes con Diagnóstico de Fiebre Dengue con manifestaciones hemorrágicas.

SIGNOS Y SINTOMAS	N°	%
PETEQUIAS	11	61,1
EQUIMOSIS	6	33,3
HEMOPTISIS	3	16,6
METRORRAGIA	3	16,6
EPISTAXIS	3	16,6
HEMATURIA	3	16,6
MELENA	1	5,5
GINGIVORRAGIA	1	5,5



Tabla N°7

Signos y síntomas de la población según el tipo de anticuerpo contra el virus del Dengue.

SIGNOS Y SINTOMAS	IgM (%)	IgG (%)	IgM-IgG (%)
FIEBRE	100,0	75,00	96,43
CEFALEA	92,31	87,50	82,14
DOLOR RETROORBICULAR	61,54	75,00	67,86
ARTRALGIAS	69,23	50,00	57,14
MIALGIAS	61,54	75,00	57,14
ERUPCION	61,54	25,00	46,43
NAUSEAS-VOMITOS	84,62	62,50	60,71
DIARREA	30,77	12,50	7,14
ESCALOFRIOS	38,46	62,50	53,57
TOS	23,08	12,50	21,43
PETEQUIAS	69,23	0,00	7,14
EQUIMOSIS	30,77	12,50	7,14
HEMOPTISIS	23,08	12,50	0,00
MELENA	0,00	12,50	3,57
EPISTAXIS	7,69	12,50	7,14
GINGIVORRAGIA	0,00	0,00	3,57
HEMATURIA	15,38	0,00	3,57
METRRORRAGIA	7,69	0,00	7,14
CONGESTION NASAL	30,77	0,00	35,71
DOLOR DE GARGANTA	38,46	12,50	25,00
ICTERICIA	15,38	0,00	3,57
DOLOR ABDOMINAL	38,46	50,00	28,57



Tabla N° 8

Signos y síntomas más frecuentes en pacientes menores de 13 años positivos para IgM contra el virus del Dengue.

SIGNOS Y SINTOMAS	N°	%
FIEBRE	24	100,00
CEFALEA	19	79,17
DOLOR RETROORBICULAR	16	66,67
NAUSEAS-VOMITOS	16	66,67
ERUPCION	15	62,50
ARTRALGIAS	14	58,33
ESCALOFRIOS	13	54,17
MIALGIAS	12	50,00
DOLOR DE GARGANTA	8	33,33
PETEQUIAS	7	29,17
CONGESTION NASAL	7	29,17
DOLOR ABDOMINAL	6	25,00
TOS	5	20,83
DIARREA	4	16,67
EQUIMOSIS	4	16,67
HEMOPTISIS	2	8,33
EPISTAXIS	2	8,33
ICTERICIA	2	8,33
MELENA	1	4,17
GINGIVORRAGIA	1	4,17
METRORRAGIA	1	4,17
HEMATURIA	0	0,00



DISCUSIÓN

La seroprevalencia que se evidencia en este estudio corresponde a un 36% de pacientes con niveles serológicos positivos para anticuerpos IgG contra el virus del Dengue, lo cual nos indica que la presencia de IgG anti virus del Dengue se debe a una infección pasada, por lo tanto el virus no es el responsable del cuadro clínico actual. En un estudio realizado por Sosa, et al., en el Estado Campeche, México (Sosa, et al., 2008), la prevalencia de anticuerpos IgG fue mayor, con un 67,5%.

El 42% de la población resultó positiva para anticuerpos IgM contra el virus del Dengue, es decir, que este porcentaje de personas presentaron infección primaria y activa por el virus. Estos resultados concuerdan con un estudio realizado por Morillo en la localidad de Churuguara, Estado Falcón (Morillo, 2003), donde se evidenció una seroprevalencia de anticuerpos IgM para virus del Dengue de 46%.

Un 28% de los pacientes presentaron niveles serológicos positivos concomitante para anticuerpos IgG e IgM. Se infiere que este grupo de pacientes engloba a aquellos que presentan una infección activa por el virus del Dengue la cual puede ser primaria o secundaria.

Los dos primeros grupos etarios, es decir, los de 1-10 años y 11-20 años, fueron los más afectados y el de menor prevalencia de anticuerpos para el virus del Dengue fue el de 31 a 40 años, datos que coinciden con un el estudio realizado por Morillo en la localidad de Churuguara, Estado Falcón (Morillo, 2003).

En relación al sexo, el sexo masculino presentó la mayor prevalencia de anticuerpos contra el virus del Dengue tanto IgG como IgM e IgG e IgM simultáneos, prevalencia que no coincide con el estudio realizado por Caraballo y Hernández en la



comunidad de San Jose de Guaribe, Estado Guárico (Caraballo y Hernández, 1991), donde el sexo femenino fue el más afectado con 53.6% en comparación con el sexo masculino con 46.4%. En otro estudio realizado por Troyes, et al., en la provincia de Jaén en Perú (Troyes, et al., 2006), el sexo femenino también presentó la mayor seroprevalencia de anticuerpos contra el virus del dengue con 52.1% y el sexo masculino presento una prevalencia de 47.9%.

El antecedente febril que presento el paciente al momento de la toma de muestra es de gran importancia basándonos en la fisiopatología de la infección por Dengue. En el presente estudio se evidenció que los pacientes con infección primaria y activa por el virus del Dengue, en su mayoría fueron positivos luego del quinto día con fiebre, razón por la cual internacionalmente se recomienda tomar la muestra de sangre periférica después del quinto día de aparición de la fiebre, para hacer el diagnóstico de infección por Dengue.

Por otra parte, se evidenció un elevado porcentaje de pacientes con anticuerpos IgM positivos, quienes además presentaron manifestaciones hemorrágicas, los cuales no son catalogados como Dengue Hemorrágico en esta investigación debido a que no se realizaron pruebas de laboratorio, que indiquen la presencia de hemoconcentración y trombocitopenia para confirmar el diagnóstico.

Las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes halladas en esta investigación corresponden a petequias (61.1%) y equimosis (33.3%), resultados distintos a los evidenciados en un estudio realizado por Rivas-Llamas en Culiacán, Sinaloa, México (Rivas-Llamas, et al., 2005).

Dentro de los signos y síntomas mas frecuentes que motivaron la consulta se encontraron fiebre y cefalea, similar a lo evidenciado en un estudio realizado por



García, et al., en el municipio Sifontes de Tumeremo, Estado Bolívar (García, et al., 2005).

En aquellos pacientes que presentaron anticuerpos neutralizantes IgG e IgM concomitantemente, los síntomas más frecuentes fueron fiebre, cefalea y dolor retroocular, los síntomas hemorrágicos se presentaron con una baja frecuencia. Se esperaba una mayor frecuencia de manifestaciones hemorrágicas en este grupo de pacientes, ya que engloba a aquellas posibles infecciones secundarias por el virus del Dengue.

Los pacientes con infección primaria y activa por el virus del dengue, es decir, aquellos con valores de IgM positivos presentaron el mayor índice de manifestaciones hemorrágicas, hallazgo no esperado, debido a que las manifestaciones hemorrágicas son más frecuentes en las infecciones a repetición por el virus del Dengue, sin embargo este resultado puede deberse a la infección primaria por serotipos de alta virulencia (OPS/OMS, 2001).

Los síntomas más frecuentes que presentó la población infantil estudiada fueron fiebre, cefalea, dolor retroocular. En un estudio realizado por Guzmán-Marcelino, et al., en niños de 0-15 años (Guzmán-Marcelino, et al., 1994) los síntomas más frecuentes fueron fiebre y mialgias.



CONCLUSIONES

En este estudio realizado en pacientes que acudieron al ambulatorio La Sabanita con sintomatología de Dengue, que incluye pacientes de distintos sexos y grupo etarios, en quienes se determinó la presencia de anticuerpos anti virus del Dengue en muestras de sangre periférica, podemos concluir que:

- La prevalencia de anticuerpos tipo IgM contra el virus del Dengue evidenciada en este estudio fue elevada, casi la mitad de los pacientes estudiados resultaron positivos.

- Los pacientes de los grupos etarios de 1 a 10 años y 11 a 20 años, fueron los más afectados por el virus del Dengue.

- El sexo más afectado fue el sexo masculino.

- Los signos y síntomas más frecuentes, que motivaron la consulta, de los pacientes fueron fiebre y cefalea.

- Se presentó una elevada prevalencia de manifestaciones hemorrágicas en los pacientes con infección primaria y aguda por el virus del Dengue, por lo cual se sugiere complementar este estudio con la serotipificación, debido a que se infiere que este resultado puede deberse a infección por serotipos del virus del Dengue de elevada virulencia.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anónimo. 2008. Identification of all dengue serotypes in Nepal. *Emerging Infectious Diseases*, **14**(10):1669-1670.
- Añez G. 2007. Evolución molecular del virus del dengue: un área de investigación prioritaria. *Invest Clin*, **48**(3):273-276.
- Balsamede, A., Hammond, S., Pérez, L., Tellez, Y., Saborío, S., Mercado, et al. 2006. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, **74**(3):449-456.
- Caraballo A., Hernandez J. 1991. Brote de dengue de San Jose de Guaribe, Venezuela. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **33**(5):413-415.
- Centro para el Control y la prevención de Enfermedades. 2008 Dengue y dengue hemorrágico [En línea]. Disponible: <http://www.cdc.gov/spanish/enfermedades/dengue/HojaDatos.htm> [Julio, 2009]
- García, A., Nuñez, P., Betí, I., Bastidas, W., Rosal, N. 2005. Incidencia de dengue en el municipio autónomo Sifontes y su comportamiento clínico epidemiológico, por medio de casos confirmados serológicamente en el Hospital tipo I “Dr. José Gregorio Hernández” de Tumeremo, Estado Bolívar. Enero-Noviembre del 2004. CAIBCO
- Gubler D. 1998. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Cli Mic Rev*, **11**(3):480-496.



- Guzman-Marcelino, A., Martínez, S., Guzman, N., Mateo, P., Koenig, E. 1994. Seroprevalencia de anticuerpos contra el virus dengue en niños de 0-15 años. *Archiv Dom Ped*, 30(2):35-37.
- Guzmán M., García G., Kourí G. 2006. El dengue y el dengue hemorrágico: prioridades de investigación. *Rev. Panam. Salud Pública* [Serie en línea] **19**(3): 204-215. Disponible: <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v19n3/30328.pdf> [Julio, 2009]
- Guzmán MG. 2005. Deciphering dengue: the Cuban experience. *Science*, **309**(5740):1495-7.
- Henchal E., Putnak R. 1990. The Dengue Viruses. *Clin Mic Rev*, 3(4):376-396.
- Hernández F., García J. 2000. Aedes, dengue y la posibilidad de un enfoque diferente de lucha. *Rev. Costarric. Salud Pública* [Serie en línea] **9**(16): 32-38. Disponible: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S14091429200000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es [Agosto, 2009]
- Instituto de Salud Pública (ISP). 2008. Notificación diaria de casos de dengue, Estado Bolívar, de la semana 01 a la 53, Año 2008, acumulado. [En línea]. Disponible: <http://www.isp.gov.ve/salud/index.php?menu=estadisticas> [Abril, 2010].
- Kourí G. 2006. El dengue, un problema creciente de salud en las américas. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, **19**(3):143-145.



- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPPS). 2010. Boletín Epidemiológico Semana Epidemiológica n°30. [En línea]. Disponible: <http://www.mpps.gob.ve/modules.php?name=Downloads&op=getit&lid=283> [Octubre, 2010]
- Monath T., Tsai T. 2002. Flaviviruses.. In: Richman D., Whitley R., Hayden F. Clinical Virology. ASM Press. 2a ed. Washington DC, USA. Cap 51:1097-1151.
- Mongkolsapaya J., Dejnirattisai W., Xu XN, Vasanawathana S., Tangthawornchaikul N., Chairunsri A., Sawasdivorn S., Duangchinda T., Dong T., Rowland-Jones S., Yenchitsomanus PT., McMichael A., Malasit P., Screaton G. 2003. Original antigenic sin and apoptosis in the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. Nature Med, 9(7):921–927.
- Morillo, E. 2003. Seroprevalencia y transmisión activa de fiebre dengue en la localidad de Churuguara. Estado Falcón, Venezuela. Año 2003. Com y Sal, 4(1):22-29
- OPS/OMS. 2001. Aspectos Clínicos y Diagnósticos de la Fiebre por Dengue y Dengue Hemorrágico Criterios de definición de Casos [En línea]. Disponible: <http://www.svinfectologia.org/dengue1.pdf> [Julio, 2009]
- Organización Panamericana de la Salud. 2001. The History of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) in the Region of the Americas, 1635–2001 [En línea]. Disponible: http://www.paho.org/English/AD/DPC/CD/dengue_history.htm [Julio, 2009]



- Organización Panamericana de la Salud. 2007. Dengue en las Américas: Resumen 2007 [En línea]. Disponible: <http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/eid-eer-2007-09-26.htm> [Agosto, 2009]
- Organización Panamericana de la Salud. 2008. Number of Reported Cases of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) in the Americas, by Country: Figures for 2008. [En línea]. Disponible: <http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/dengue-cases-2008.htm> [Abril, 2010]
- Pang T., Cardoso M., Guzman M. 2007. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Immunol Cell Biol*, **85**:43–45.
- Portela F., Gonçalves R., Teixeira G., Ferreira S., Cardoso D., Rodríguez R. 2007. Estudio retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinamicas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **40**(2):192-196.
- Red de Sociedades Científicas Médicas de Venezuela (RSCMV). 2010, febrero. Situación del Dengue en las Américas. Breve Actualización Epidemiológica. [En línea]. Disponible: <http://www.rscmv.org.ve/pdf/notanro7.pdf> [Octubre, 2010].
- Restrepo B., Isaza D., Salazar C., Ramírez R., Ospina M., Alvarez L. 2008. Serum levels of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gama in infants with and without dengue. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **41**(1):6-10.



- Rivas, R., Chaín, R., Murillo, J., Ramírez, M., Gadea, T., López, E. 2005. Manifestaciones hemorrágicas en el dengue. *Rev Biomed*, **16**(2):87-94.
- Sosa, T., Álvarez, M., Blum, S., Salicorrea, H. 2008. Identificación de serotipos del virus dengue circulantes en el estado de Campeche, México. *Rev Cubana Med Trop*, **60**(3):55-69
- Souza D., Rezende E., Santos S., Da Silva G., Shugiro M., Cheli W. 2007. Characterization of dengue virus serotype 1 in epidemics in Porto Velho, Rondonia, in 2001-2003. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **40**(3):268-271.
- Tibaire M. 2001 a. Actualización en Dengue. Parte 1. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, **21**(1):39-45.
- Tibaire M. 2001 b. Actualización en Dengue. Parte 2. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, **21**(1):78-84.
- Troyes, L., Fuentes, L., Troyes, M., Canelo, L., García, M., Anaya, E., et al. 2006. Etiología del síndrome febril agudo en la provincia de Jaén, Perú 2004-2005. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, **23**(1):5-11.



APENDICE

**APENDICE N°1****CONSENTIMIENTO INFORMADO**

En la Escuela de Ciencias de la Salud “Francisco Virgilio Battistini Casalta” de la Universidad de Oriente (U.D.O.) se realiza el proyecto de investigación epidemiológica titulado “Prevalencia de anticuerpos neutralizantes del virus del dengue en pacientes con sintomatología de dengue” con el objeto de conocer cuáles son los serotipos del virus que circulan en la población y su relación con cuadros sintomáticos, severos y con predisposición a manifestaciones hemorrágicas.

Yo, _____ C.I. _____ Nacionalidad, _____
Edad, _____ Estado _____ Civil, _____ Domiciliado
en, _____.

En caso de menor de edad:

Representante legal de _____ Edad,
_____ C.I. _____.

Siendo mayor de 18 años en uso pleno mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que abajo índico, declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte de los estudiantes de medicina, Rojas C. Lismar de V. y Hernández T. Elías M., de la Escuela de Ciencias de la Salud “Francisco Virgilio Battistini Casalta” de la Universidad de Oriente (U.D.O.), coordinados por el Prof. Gerardo Godoy, de todos los aspectos relacionados al proyecto de investigación epidemiológica titulado



“Prevalencia de anticuerpos neutralizantes del virus del dengue en pacientes con sintomatología de dengue”.

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo fundamental del trabajo antes señalado es: Conocer cuáles son los serotipos del virus del dengue que circulan en la población y su relación con cuadros sintomáticos, severos y con predisposición a manifestaciones hemorrágicas.

3.- Haber sido informado de que mi participación en el proyecto consiste en donar de manera voluntaria a la Escuela de Ciencias de la Salud una muestra de sangre de 5 ml la cual se me extraerá mediante punción venosa, previa asepsia y antisepsia de la región anterior del antebrazo por una persona capacitada.

4.- Que la muestra sanguínea que acepto donar así como la información que suministre al equipo de investigadores será utilizada única y exclusivamente para determinar: La presencia de anticuerpos neutralizantes del virus del dengue.

5.- Que el equipo de investigadores me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como de cualquier información relativa a mi persona a la que tengan acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.

6.- Que estoy de acuerdo en el uso, para fines académicos, de los resultados obtenidos en el presente estudio.

7.- Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.

8.- Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores con quienes me puedo comunicar por los teléfonos 0424-9409721 con Br. Lismar Rojas y 0424-9000823 con Br. Elías Hernández.

9.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

10.- Que los resultados de las pruebas serán entregados a la brevedad posible al ambulatorio, para ser adjuntados a mi historia clínica.



DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido e informado con respecto a este formato de consentimiento, acuerdo:

A.- Aceptar las condiciones estipuladas y a la vez autorizar al equipo de investigadores de la Escuela de Ciencias de la Salud a realizar el referido estudio en la muestra de sangre que acepto donar a los fines indicados anteriormente.

B.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización así como mi participación en el proyecto, lo cual hare en forma escrita, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del Voluntario

Fecha_____

Firma Testigo_____

Nombre_____

C.I._____

Fecha_____

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado. Certifico mediante la presente que, quien firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en el estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de



instrucción han impedido tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Br. Rojas C. Lismar del V.

Br. Hernández T. Elías

H.

Lugar

y

Fecha: _____

**APENDICE N°2****FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

NOMBRE DEL PROYECTO: PREVALENCIA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL VIRUS DEL DENGUE EN PACIENTES CON SINTOMATOLOGIA DE DENGUE.

CODIGO	
Nombre	
Sexo	
Etlad	
Domicilio	
Fecha	
Inicio sintomas	
Telefono	

SINTOMAS Y SIGNOS CLINICOS

1.Fiebre	9.Escalofrios	17.Hematuria
2.Cefalea	10.Tos	18.Metrorragia
3.Dolor R.Orb	11.Petequias	19.Cong. Nasal
4.Artralgias	12.Equimosis	20.Dolor de Garg
5.Mialgias	13.Hemoptisis	21.Ictericia
6.Erucion	14.Melena	22.Dolor Abd.
7.Naus-Vom	15.Epistaxis	23.Prueba Torniq
8.Diarrea	16.Gingivorragia	Otros

Realizado por: Br. Rojas C. Lismar del V.
Br. Hernandez T. Elias M.



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

TÍTULO	Prevalencia de anticuerpos neutralizantes del virus del dengue en pacientes con sintomatología de dengue.
SUBTÍTULO	

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CVLAC / E MAIL
Hernández T., Elias M.	CVLAC:17.289.810 E MAIL:eliashernandez2@hotmail.com
Rojas C., Lismar del V.	CVLAC:18.012.378 E MAIL:lvrc@hotmail.com
	CVLAC: E MAIL:
	CVLAC: E MAIL:

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Dengue

Anticuerpos

Prevalencia

Sintomatología

Estado bolívar



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA	SUBÀREA
Microbiología y Parasitología	Virología

RESUMEN (ABSTRACT):

El dengue, enfermedad febril aguda causada por virus del género Flavivirus, familia Flaviviridae, transmitida por mosquitos del género Aedes. Es la enfermedad viral transmitida por artrópodos de mayor importancia, constituye una prioridad de salud pública en países tropicales y subtropicales. El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus del dengue en el suero de pacientes con sintomatología de Dengue que acudieron al ambulatorio La Sabanita, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar. A cada paciente, luego de completar el registro de identificación, se le tomo una muestra de sangre periférica que fue analizada mediante el test Dengue IgG Capture ELISA y Dengue IgM Capture ELISA (Panbio, Inverness Medical Innovaciones Australia). De 100 muestras de sangre colectadas, 36% resultaron tener niveles serológicos positivos de anticuerpos IgG contra el virus del dengue, 42% para anticuerpos IgM y 28% resultaron positivas para anticuerpos IgG e IgM concomitantemente. Los grupos etareos de 1-10 años y 11-20 años presentaron la mayor prevalencia de anticuerpos contra el virus del Dengue. El sexo más afectado fue el masculino. Los pacientes con infección primaria y activa por el virus del Dengue en su mayoría fueron positivos luego del quinto día con fiebre. Un elevado porcentaje de pacientes con anticuerpos neutralizantes IgM positivos presentaron manifestaciones hemorrágicas (42.9%). Los signos y síntomas más frecuentes fueron fiebre y cefalea.



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU x	JU x
Godoy, Gerardo A.	ROL	CA	AS	TU x	JU x
	CVLAC:	80.867.034			
	E_MAIL	godorey@cantv.net			
	E_MAIL				
Sandoval de M., Marisol	ROL	CA	AS	TU	JU x
	CVLAC:	3.020.413			
	E_MAIL	sandomarisol@gmail.com			
	E_MAIL				
Parrilla A., Pedro	ROL	CA	AS	TU	JU x
	CVLAC:	4.771.295			
	E_MAIL	pparrilla@gmail.com			
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2010	10	20
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis.Prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus del dengue en paciente con sintomatología de dengue.	. MS.word

ALCANCE

ESPACIAL: Ambulatorio La Sabanita II Ciudad Bolivar edo Bolivar

TEMPORAL: 5 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Médico Cirujano

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO:

Microbiología y Parasitología, Sección Virología

INSTITUCIÓN:

Universodad de oriente



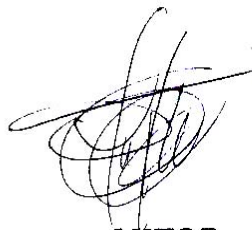
METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 44 del reglamento de trabajos de grado
“Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al Consejo Universitario “



AUTOR



AUTOR



TUTOR



JURADO



JURADO



POR LA SUBCOMISION DE TESIS