

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL
Y CENTRO DE SALUD DEL DEPARTAMENTO
DE ESCUINTLA, GUATEMALA.



RAFAEL LORENZO CORADO CANTEROS

MEDICO Y CIRUJANO

INDICE

	Pag.
I. Introducción	1
II. Definición y Análisis del Problema	2
III. Justificación.....	4
IV. Objetivos.....	5
V. Revisión Bibliográfica.....	6
VI. Metodología	12
VII. Presentación y Análisis de Resultados	22
VIII. Conclusiones	35
IX. Recomendaciones	36
X. Resumen	37
XI. Bibliografía	38
XII. Anexos	40

TITULO:

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE
SALUD DEL DEPARTAMENTO ESCUINTLA. GUATEMALA.

SUBTITULO:

Estudio serológico y virológico durante los meses de
marzo a mayo del 2000

I. INTRODUCCION

El presente estudio constituye una investigación transversal-descriptiva realizada con 100 pacientes que consultaron con sospecha de dengue al Hospital Nacional y Centro de Salud de Escuintla durante los meses de marzo a mayo del 2000.

El propósito principal fue identificar el serotipo viral de dengue que se encontraba circulando y medir anticuerpos IgM mediante pruebas complementarias como Elisa y cultivo.

Entre los principales resultados obtenidos, se logró encontrar que el 27% fueron positivos para anticuerpos IgM por Elisa y cultivo de virus de dengue; el 17% fueron positivos para anticuerpos IgM y no se les encontró virus por cultivo, en el 8% se aisló virus dengue-2 y no se encontraron anticuerpos IgM, únicamente el 2% de los pacientes presentó anticuerpos IgM y se les aisló virus dengue-2 por cultivo.

Los resultados confirman el peligro de dengue hemorrágico pues en estudios anteriores del Ministerio de Salud Pública, se demostró la circulación del dengue-1 además del dengue-2 encontrado en este estudio.

II. DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA.

El dengue es una infección viral aguda que se transmite de una persona a otra por medio del mosquito hematófago del género *Aedes*. Se caracteriza por fiebre, mialgias y artralgias intensas y el apareamiento de exantema.

Es propio del trópico y subtropical. Se describen varias formas de presentación: el clásico, la Fiebre Hemorrágica de Dengue, Síndrome de Choque por Dengue (FHD/SCD), asintomáticos y formas atípicas. Se conocen cuatro serotipos virales siendo estos Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3 y Dengue 4.

Los factores de riesgo que podemos mencionar en la aparición de dengue en Guatemala son: antecedentes de ocurrencia, presencia de criaderos de *Aedes aegypti*, sitios urbanos de almacenamiento de llantas, falta o escasa cobertura de agua entubada, desordenado crecimiento urbano y periurbano, infestación alta de mosquitos y circulación amplia del virus.

Los servicios básicos de agua y saneamiento fueron los más afectados por el huracán *Mitch* en el año de 1998, por lo que fueron y continúan siendo en el área afectada factores de riesgo para el desarrollo de criaderos para larvas del vector del dengue.

El problema de dengue se traduce en los grupos de población afectados como pérdidas económicas ya que las personas enfermas por lo general no asisten a sus labores y si son niños se traduce en ausentismo escolar, además de lo anterior en los casos en que se presenta el dengue hemorrágico podemos obtener como consecuencia pérdidas de vidas humanas. Esta es la importancia de su prevención.

Para su prevención y control es sumamente necesario el diagnóstico de laboratorio, para definir con certeza que es dengue la enfermedad que se presenta en una localidad, describir su serotipo y estar alerta a la presencia del dengue hemorrágico.

En este estudio se analizó el suero de pacientes que consultaron con fiebre y malestar general al Hospital y Centro de Salud de Escuintla. A partir de estos sueros se evaluó con la técnica de Elisa y cultivos si los pacientes presentaron dengue y cual era el serotipo circulante.

Este dato es muy importante ya que la circulación de serotipos diversos en poblaciones donde hay pacientes susceptibles (que han presentado dengue con anterioridad) es un factor epidemiológico importante que debe de vigilarse para prevenir el dengue hemorrágico.

III. JUSTIFICACIÓN.

Desde hace más de 200 años se ha venido notificando el dengue en las Américas. Actualmente los brotes son muy frecuentes especialmente en Yucatán y Centroamérica, el intervalo entre ellos se ha reducido.

De las enfermedades tropicales causadas por arbovirus, es posiblemente la más extendida.

Los indicadores de Guatemala, especialmente después del huracán Mitch según los datos estadísticos de la D.G.S.S. del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social durante la semana epidemiológica comprendida del 1 de enero al 26 de septiembre de 1999, informaron un total de 2,055 casos de dengue clásico.

Los departamentos más afectados fueron: Escuintla con 605 casos, Quetzaltenango con 253 casos, Santa Rosa 246 casos, Zacapa 183 casos y Chiquimula 180 casos.

Se realizó este estudio ya que Escuintla es uno de los departamentos donde se ha reportado el mayor número de casos y por lo tanto es necesario conocer con certeza si los pacientes que presentan sintomatología clínica son efectivamente pacientes que están infectados. Es importante epidemiológicamente vigilar el número de casos que se presentan y el serotipo viral.

La amplia distribución del vector, pacientes susceptibles y circulación del serotipo diferente son factores importantísimos para establecer medidas de prevención enérgicas de prevención contra el dengue hemorrágico.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Confirmar por laboratorio el diagnóstico de dengue en casos sospechosos que asisten al Hospital Nacional Regional y Centro de Salud de Escuintla durante los meses de marzo a mayo del 2000.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Analizar la edad y el sexo de los pacientes con dengue.
2. Determinar la prevalencia de dengue en el hospital y Centro de Salud Escuintla.
3. Medir anticuerpos IgM-Dengue en los pacientes con fiebre y sintomatología constitutiva de dengue .
4. Aislar el serotipo viral circulante en los pacientes con dengue .
5. Comparar la circulación del virus a nivel sanguíneo y sistema retículoendotelial según el tiempo de evolución de la enfermedad de los pacientes confirmados positivos para dengue.
6. Describir síntomas que predominaron en pacientes confirmados positivos para anticuerpos IgM y con aislamiento viral de dengue.

V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. HISTORIA.

Desde hace más de 200 años se ha venido notificando dengue en las Américas. (1,7)

La primera epidemia de dengue clásico documentada en laboratorios estaba relacionada con el serotipo 3 y afectó a la Cuenca del Caribe y a Venezuela en 1963-1964. Solo se había aislado el virus dengue 2 en la Región, en Trinidad durante 1953-1954, en una situación no epidémica. (1,7)

En 1968-1969, otra epidemia afectó a varias islas del Caribe y en su transcurso se aislaron serotipos de dengue 2 y 3. (1,7,13)

En 1970, Colombia se vio afectada por extensos brotes asociados con los serotipos 2 y 3.

En 1977, se introdujo en las Américas el serotipo 1, que después de su detección inicial en Jamaica se propagó a la mayoría de las islas del Caribe causando brotes explosivos.

En 1980, la magnitud del problema del dengue aumentó considerablemente. En 1982, en el norte de Brasil ocurrió una epidemia causada por serotipos 1 y 4. (1,7,13)

En Guatemala en 1992, se informó del apareamiento de casos en la costa sur, región central, oriente del país y Petén. (7)

B. DEFINICIÓN.

El dengue es una infección viral aguda y sistémica, que se transmite de una persona a otra por medio de un mosquito hematófago del género *Aedes*. Se caracteriza por fiebre, mialgias y artralgias intensas, y el apareamiento de exantema. (1,7,13)

Existen varias formas de presentación: el clásico, la Fiebre Hemorrágica de Dengue/Síndrome de Choque por Dengue (FHDISCD), asintomáticos y formas atípicas. Hay cuatro serotipos Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3 y Dengue 4. (1,7,8)

C. EPIDEMIOLOGIA.

De las enfermedades tropicales causadas por arbovirus, es posiblemente las más extendida. Se le conoce también como fiebre dengue, dengüero, fiebre bouquet, fiebre quebrantahuesos, fiebre Polka, fiebre de cinco días y fiebre Dandy. (13)

La palabra DENGUE es de origen hispano-antillano, se comenzó a emplear para designar los brotes ocurridos en las islas del Caribe entre 1827 y 1828. (1,7,13)

La enfermedad se transmite de persona a persona, por medio de la hembra (hematófaga) del mosquito del género *Aedes*.

La enfermedad en su forma clásica presenta altas tasas de morbilidad pero bajas tasas de mortalidad; sin embargo, debido a la fiebre y los dolores que causa, produce un impacto socio-económico importante para el ausentismo escolar y laboral, en su forma hemorrágica causa mayor mortalidad. (1,7)

D. CUADRO CLINICO.

El cuadro clínico se caracteriza por comienzo brusco, fiebre alta (40° C), mialgias y artralgias intensas, exantema y ataque al estado general. (1)

El periodo de incubación oscila entre 3 y 8 días, con una variación de 2.5 a 15 días, seguida de síntomas prodrómicos generales. (1,13)

Puede persistir por cinco o seis días y habitualmente termina en crisis, por lo que se le ha conocido también como “fiebre de los cinco días”. Puede haber una curva febril en silla de montar o difásica. (1,13)

La hipertermia se acompaña de cefalea intensa, dolor retroocular, dolor de músculos y articulaciones con escalofrío moderado. Los dolores musculares y articulares son tan intensos, que motivaron que se le denominara “fiebre quebranta-huesos”. (1, 7,11)

La alteración del sentido del gusto es frecuente al inicio de la enfermedad. Puede haber astenia, mareos, fotofobia, diaforesis, ardor de garganta, tos, epistaxis, disuria, hiperestesia, dolor inguinal, dolor testicular y ocasionalmente delirio. (7,11)

Al examen físico los ganglios linfáticos del cuello, epitroclea y región inguinal pueden palpase aumentados de tamaño. (1)

E. DIAGNOSTICO.

El diagnóstico se hace en base a la obtención del virus por cultivos o por pruebas serológicas. (5,14)

Para confirmar el diagnóstico clínico se puede utilizar inhibición de la hemaglutinación (IH), neutralización viral, fijación del complemento, Mac Elisa y cultivo. (3,9, 12, 14)

El método más simple y accesible es la Inhibición de la Hematoglutinación (IH), el cual se realiza idealmente con un par de sueros. La primera muestra se obtiene durante la fase aguda y la segunda 10 a 15 días después, en la

convalecencia. Se considera que un aumento por arriba de 1:10, con título de cuatro veces o más en cualquiera de las pruebas serológicas realizadas en series de dos o más sueros, es positivo para el diagnóstico de Dengue Agudo. (9-12)

La Inhibición de la Hemaglutinación (IH) mide niveles de IgG, o IgM, por lo que, encontrar niveles elevados en 114 puede significar contacto previo con algún arbovirus, incluyendo al Dengue. En un cuadro agudo, la IgG se eleva en las primeras semanas, para luego descender y permanecer positivo en niveles bajos por largo tiempo. (9,12)

El Mac-Ellisa (modificación de Ellisa) mide la IgM, por lo que es útil para la fase aguda. La IgM se eleva durante los primeros días de la enfermedad para luego disminuir y eventualmente desaparecer. (9,12)

F. TRATAMIENTO.

El tratamiento es sintomático, se recomienda acetaminofén, en dosis de acuerdo a la edad del paciente. Los salicilatos precipitan la presencia de acidosis y las hemorragias, por lo que no se recomienda. (1,13)

La dieta es abundantes líquidos y control del vector.

G. EL VECTOR.

Es un mosquito que se originó probablemente en Africa y después fue transportado a América por el tráfico marítimo. En un tiempo se le llamó “el mosquito de los puertos”, pero su fácil adaptabilidad al medio y la abundancia de formas de transportación propiciaron su gran difusión. (1,7,13)

El *Aedes aegypti* es un mosquito doméstico que se reproduce casi exclusivamente, en el agua contenida en recipientes artificiales depositados cerca o en el interior de las habitaciones humanas. (1,7,13)

Solo las hembras de los mosquitos son las que succionan sangre porque la necesitan para desarrollar sus huevecillos y perpetuar su especie. La hembra es hematófaga y pica vorazmente durante el día, más del 90% de la sangre que ingiere la obtiene de seres humanos. (1,7, 13)

El ciclo larvario dura generalmente doce días, pero en condiciones óptimas se reduce a seis, y cuando las circunstancias son adversas inducen en su desarrollo metabolismo lento y resistencia de los huevos a la deshidratación, pueden protegerse hasta 20 días. (1)

H. CONTROL DEL VECTOR.

Las medidas para el control de las enfermedades transmitidas por el mosquito se han encaminado principalmente hacia la eliminación y/o erradicación del vector. (1, 13)

Los métodos de control de larvas han tenido prioridad por ser mas prácticos que el ataque a los mosquitos adultos y porque sus resultados son mas verificables; se basan principalmente en la reducción o eliminación de criaderos por la destrucción o inhabilitación de las fuentes de reproducción larvaria. (1, 13)

Para tener información sobre la situación del vector se han creado indicadores:

- a) Índice de viviendas o índice de *Aedes aegypti*. Porcentaje de casas con criaderos del mosquito.
- h) Índice de depósitos: Porcentaje de depósitos con larvas, calculadas sobre la totalidad de depósitos que se examinan.
- c) Índice de Breteau. Número de depósitos con larvas por cada 100 casas.

Cuando el índice de Breteau es inferior a cinco, el del depósito por debajo de tres y el índice larvario de casas es menor de cuatro, se considera que existen pocas probabilidades de transmisión continua de los virus de fiebre amarilla o del

dengue. (1,13)

Se consideran como zonas de ALTO RIESGO EPIDEMICO aquellas con índice de Breteau superior a 50, larvario de casa por arriba de 35 e índices de depósitos superiores a 20. La tasa de ataque o de picadura se calcula como el número de hembras capturadas por hora-hombre picando sobre un cebo humano. Las tasas superiores a dos hembras por hora-hombre indican riesgo de transmisión. (1,10, 13)

1. EL VIRUS.

El dengue virus pertenece al grupo de los flavivirus, es un virus ARN, y tiene algunos antígenos cruzados en común con los virus de la fiebre amarilla, encefalitis de San Luis, equina, encefalitis japonesa B y otros. (9)

La mayoría de las infecciones humanas de interés epidemiológico son causadas por los Togavirus de los grupos A o alfavirus y B o flavivirus. (1,9)

Puede sobrevivir a 4º por varias semanas y por años a -70º C. El virus se inactiva después de calentamiento por hora y media a 50º C y resiste 30 minutos de la luz solar. (1,9)

J. TRANSMISION.

Cuando la persona susceptible ha sido infectada por dengue, es posible encontrar los virus en su sangre después de cinco días y un periodo de cuatro a cinco días posteriores. La persona virémica es una fuente infectante para hembras hematófagas.

Se ha demostrado experimentalmente la transmisión transovárica, aunque no se ha determinado su importancia en el proceso de la enfermedad. (1, 13)

VII. METODOLOGIA

a. Tipo de Estudio:

Transversal – Descriptivo

b. Sujetos de Estudio:

Pacientes que presentan fiebre y cuadro clínico de dengue.

c. Población de Estudio:

100 pacientes con fiebre y sintomatología de dengue que consultaron al Hospital Nacional y Centro de Salud de Escuintla, en los meses de marzo a mayo de año 2000. Se calculó en base a los registros mensuales del año pasado que según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social que fueron aproximadamente 9 casos confirmados por mes en el departamento de Escuintla. (9 x 12 meses).

d. Criterios de Inclusión:

Pacientes de cualquier edad y sexo con manifestaciones clínicas de dengue tales como: cefalea intensa, dolor retroorbital, dolores musculares, articulares y erupción cutánea.

Pacientes con fiebre sin ninguna otra manifestación clínica de dengue.

e. Criterios de Exclusión:

Pacientes que tengan diagnóstico clínico y laboratorio de otra enfermedad.

f. Variables

NOMBRE	PREVALENCIA	EDAD	SEXO	PACIENTE CON Dx. DENGUE
CONCEPTO	Casos nuevos más casos viejos de Dengue en una población en un tiempo determinado	Tiempo transcurrido desde el nacimiento	Condición orgánica que distingue de masculino y femenino	Sintomatología clínica positiva
DEFINICION OPERACIONAL	Casos nuevos más casos viejos de Dengue captados en los servicios de Salud Escuintla en período de marzo a mayo del 2000	Se anotará la edad en años referida en la entrevista	Lo referido en la boleta de recolección de datos	Sintomatología más análisis de laboratorio
ESCALA DE MEDICION	Nominal	Ordinal	Nominal	Elisa, IgM, Cultivo
UNIDAD DE MEDIDA	Elisa, IgM, Cultivo	Edad en años	Masculino Femenino	Positivo-Negativo

g. Plan de Recolección de Datos

Previa a la extracción de la muestra se habló con el paciente, para contar con su autorización escrita para extraer muestra de sangre para efectuar diagnóstico de laboratorio. Se extrajo 5 cc. de sangre, se centrifugando la muestra en el Centro de Salud y en el Hospital, luego se guardó en termo con hielo para transportarla al laboratorio multidisciplinario Fase II, en la Facultad de Ciencias Médicas.

Si no hubiese sido posible transportarlo ese mismo día el suero siempre estéril se guardó en el refrigerador a menos 20^º Centígrados.

Si el paciente no se encontró febril y en período menor de siete días de evolución, el suero se inoculó en células para identificación viral y determinación de anticuerpos IgM.

Si el paciente no se encontró febril y presentó más de siete días de evolución de la enfermedad, se determinó únicamente anticuerpos IgM.

Una vez en el laboratorio se procedió a realizar el método de Ellisa para determinar anticuerpos IgM como se detalla a continuación:

Método Ellisa:

Se conformó un kit o juego de reactivos con un total de 180 terminaciones, ya sea en placas completas o en grupo de cuatro tiras desmontables, siendo los componentes del sistema los siguientes:

- 2 placas de poliestireno sensibilizadas con anti IgM
- Un frasco de diluyente de muestra 25 por (3 ml).
- 2 frascos de control positivo (1 ml c/u) y 2 de negativo (1.5 ml c/u listos para usar).
- 1 frasco de solución de lavado 25 x (100 ml).
- 1 frasco de suero humano negativo (2 ml).
- 6 frascos de antígeno inactivado liofilizado conteniendo los cuatro serotipos (2 ml).

- 6 frascos de sustratos liofilizado (5 ml c/u).
- 1 frasco de peróxido de hidrógeno (500 nl).

El antígeno de dengue, los controles positivos y negativos y el suero humano negativo (SHN) se encuentran inactivados. Los controles del suero humano negativo son no reactivos para el virus VIUI y 2, y para HBAGs, no obstante debe manejarse con precaución.

Procedimiento.

1. Retirar del estuche las placas o tiras a utilizar según el número de muestras a procesar. Se recomienda confeccionar un esquema de trabajo identificando correctamente la posición de cada muestra y los controles.
2. Dispensar 50 ul del diluyente de muestra lx en todos los pocillos con excepción de los pocillos para los controles positivos y negativos. Añada entonces siguiendo el esquema de distribución 2,5 nl. de cada suero, agitando ligeramente la placa para hemoginizar la dilución. Se recomienda utilizar no menos de 2 pocillos para el control positivo y para el negativo.
3. Incubar en cámara húmeda 2 horas a temperatura ambiente.
4. Lavar la placa 5 veces con la solución de lavado lx, utilizando un volumen de 250-300 ul por pozo. Si se dispone de lavador automático seguir similar procedimiento. Secar la placa invirtiéndola sobre papel del filtro.
4. Dispensar 50 ul de antígeno por pozo, reconstituido previamente con 2 ml de solución de lavado conteniendo SHN al 5%. Incubar a 4 grados centígrados durante toda la noche.

6. Lavar 5 veces con solución de lavado como en el punto 4
7. Dispensar 50 ul por pozo del conjugado previamente diluido con 2 ml de solución de lavado conteniendo SUN al 5% incubar 1 hora a 37° C en cámara húmeda.
8. Lavar 7 veces con solución de lavado como en el punto 4.
9. Añadir 100 ul del sustrato reconstituido previamente con 5 ml de agua destilada, adicionando 2 nl de peróxido de hidrógeno. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
10. Detener la reacción adicionando 100 ul por pozo de la solución del ácido sulfúrico al 12,5% en el mismo sentido en que se añadió el sustrato.
11. Realizar la lectura de la densidad óptica utilizando un filtro de 492 nm y ajustando blanco con el aire.

Cálculo de Resultados

1. Calcular la media de la densidad óptica de los controles negativos (X_n).
2. Calcular la media de la densidad óptica de los controles positivos (X_p).

Validez de la prueba: $X_p \geq 5X_n$, Valor límite: $2x_n$

El valor de corte se establece en función de la media del control negativo considerando como positivos aquellos sueros que presenten un valor de densidad óptica mayor o igual a dos veces la media del negativo. La validez del sistema se establece por la relación de la media de los positivos y los negativos la cual debe ser igual o mayor de 5.

IMPORTANTE: un resultado negativo a la presencia de IgM contra dengue no excluye la posibilidad de exposición anterior a este virus por lo que en caso de síntomas clínicos compatibles, se recomienda probar una nueva muestra varios días después.

Si el tiempo de evolución lo amerita y el paciente está febril se procederá a realizar cultivo en línea celular como se detalla a continuación.

Línea Celular C6/36:

La línea celular es un clon obtenido de la línea *Aedes albopictus* de Singh (1967), que presenta una alta sensibilidad a los virus del Dengue y Chikungunya, aunque en estudios realizados recientemente (Kunol, 1985) se ha demostrado que resultan menos sensibles en comparación con otras líneas celulares de mosquitos tales como la AP 61 y las TRA-284.

Aunque algunas cepas de Dengue son capaces de producir efecto citopático (ECP) de tipo sincitial en las C636, este fenómeno no es característico de la línea. Con mucha frecuencia se observa toxicidad en las células a causa de los inóculos empleados.

Medios y materiales:

- Medio de crecimiento para 100 ml
- MEM (Earle IOx 10 ml)
- STF (Inactivado)10 ml
- Solución aminoácidos esenciales 2 ml
- Glutamina 200 M 1 ml

Completar a 100 ml. con agua bidestilada y ajustar el ph a 7. De las Firmas comerciales Gibco y Low puede obtenerse el medio MEM Earle con aminoácidos no esenciales y glutamina, al que sólo es necesario añadir STF.

Pipetas de 5-10 ml. con la punta doblada en ángulo de 90 o paleta de plástico.

Siembra de Células:

- Decantar el medio de un frasco Ronx con monocapa confluyente.
- Desprender las células en 10 ml. de medio de crecimiento de forma tal que el medio caiga perpendicular a la monocapa celular o desprender la superficie con una espátula pequeña.
- Añadir 1 ml. de suspensión celular a cada Ronx que contenga de 100-120 ml. de medio de crecimiento (split 1:10 semanal) 8×10^6 células/ml incubar a 34°C. La monocapa estará completa en 4 a 5 días.
- Si fuera necesario realizar la inoculación a los tres días de sembradas las células, debe aumentarse la concentración a $2-3 \times 10^6$ células/ml utilizando para ello una razón de pase de 1:5-1:6. El medio que se emplea para mantener las células después de inoculadas es el medio de crecimiento de la línea, sólo es necesario suplementarlo con 2 % STF.

Si el cultivo es positivo se procederá a determinar el serotipo viral como se detalla a continuación:

Procedimiento para la IF indirecta:

- Sobre la muestra se añade en antisuero específico en dilución apropiada en cantidad suficiente para cubrirla por completo. El antisuero específico puede ser líquidos, ascíticos, e hiperinmunes, de preferencia, sueros hiperinmunes, sueros de pacientes, anticuerpos monoclonales y otros en dependencia del objetivo de la experiencia.

- Las láminas se mantienen a 37° C durante 30 minutos en cámara húmeda. Posteriormente se colocan en los usos Koplín. Se añade PBS que se elimina al instante. Se agrega nuevamente PBS y se agita suavemente 15 segundos, se elimina el PBS y de esta misma forma se realiza otro lavado hasta un lavado hasta un total de 3.
- Se extraen las laminas de los vasos Koplín, se secan cuidadosamente por la cara posterior a donde están las muestras y sobre ellas se añade el conjugado comercial que ha sido previamente titulado y determinado la dilución de trabajo. Esta dilución se prepara utilizando PBS mas azul de Evans, que servirá de contraste.
- Las muestras se mantienen en contacto con el conjugado durante 30 minutos a 37° C. en cámara húmeda.
- Después de lavadas, las láminas se secan por detrás y encima de las muestras, se añade una pequeña cantidad de glicerina buferada (9 volúmenes de glicerina + volumen de PBS). Sobre la glicerina se coloca cuidadosamente el cubreobjeto con un ángulo de 45° con respecto a la superficie de forma tal que no forme burbujas que dificultan grandemente la observación a microscopio.
- Se observan las láminas bajo un microscopio para fluorescencia y se valoran la muestran positivas y negativas teniendo en cuenta lo observado en los controles que deben incluirse en cada experiencia. La Inmunofluoreescencia Específica, en este caso, se describe como citoplasmática perinuclear.

h. Plan de Análisis

De acuerdo a la historia clínica, los resultados virológicos y serológicos del

paciente con Dengue se hará un análisis univariado utilizando razones, proporciones, índices, y tasas.

i. Aspectos Eticos de la Investigación.

El presente estudio se realizó con pacientes pertenecientes a diferentes grupos etáreos de sexo masculino y femenino que consultaron tanto al Hospital Nacional como al Centro de Salud de la cabecera de Escuintla, a quienes se les explicó la importancia del estudio y de los procedimientos que se realizarían, siempre contando con el consentimiento escrito del paciente.

No se invadió su vida privada, se les trató con ética profesional y se les brindó tratamiento para la enfermedad cuando fue necesario.

j. Recursos

1. ECONOMICOS

❖ Boletas de Recolección de Datos	Q	25.00
❖ Transporte	Q	300.00
❖ Material y Equipo	Q	1,000.00
❖ Impresión de Tesis	<u>Q.</u>	<u>900.00</u>
Total	Q	2,225.00

2. FISICOS

- ❖ Laboratorio del Hospital Nacional Regional del Escuintla
- ❖ Laboratorio del Centro de Salud de Escuintla.
- ❖ Laboratorio Multidisciplinario, Facultad de Ciencias Médicas de la USAC
- ❖ Refrigerador
- ❖ Termo
- ❖ Biblioteca (Centro de Salud de Escuitla USAC)
- ❖ Biblioteca INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América y

Panamá)

3. HUMANOS

- ❖ Pacientes
- ❖ Laboratoristas
- ❖ Bibliotecarios

VII. PRESENTACION Y ANALISIS DE RESULTADOS

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE SALUD DEL DEPARTAMENTO ESCUINTLA, GUATEMALA.

Cuadro 1

Grupo etáreo y sexo de pacientes que consultaron con cuadro clínico de dengue.

EDAD	SEXO		TOTAL
	M	F	
0 – 12 m	1	0	1
1 – 4 a	0	3	3
5 – 14 a	13	12	25
15 – 24 a	8	15	23
25 – 34 a	7	15	22
35 – 44 a	6	7	13
45 – 54 a	1	4	5
55 – 64 a	3	1	4
65 – 74 a	1	2	3
75 - +	0	1	1
TOTAL	40	60	100

Fuente: Boleta de Recolección de Datos.

CUADRO 1

En este estudio el grupo etareo más afectado fue el de 5 a 14 años de edad, con en el 25% de los casos. Según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social en el departamento de Escuintla, durante los meses de Enero a Septiembre de este año el grupo etareo más afectado fue de 10 a 19 años con un 53% casos, lo que nos indica que la enfermedad afecta principalmente a los niños y jóvenes.

De 100 pacientes que consultaron con clínica sospechosa de dengue el 40% era de sexo masculino y el 60% de sexo femenino. El Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, no tiene referencias por sexo. Es probable que la enfermedad se presente con mayor frecuencia en el sexo femenino debido a que los hábitos de este vector son diurnos y es intradomiciliario.

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE SALUD DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA, GUATEMALA

CUADRO 2

Aislamiento viral y determinación de anticuerpos IgM en pacientes sintomáticos por edad.

EDAD	Pruebas Positivas			Negativo ara anticuerpos IgMy Virus Dengue2	TOTAL
	Anticuepos IgM	Anticuepos IgM+ Virus Dengue2	Virus Dengue2		
0-12 M	1				1
1-4 a				3	3
5-14 a	5	1	1	18	25
15-24a	4		4	15	23
25-34a	5		1	16	22
35-44a	1		2	10	13
45-54a				5	5
55-64a	1			3	4
65-74a		1		2	3
75+				1	1
TOTALES	17	2	8	73	100

Fuente: Boleta de recolección de datos

CUADRO 2

A los 100 pacientes que consultaron con sintomatología de dengue al Hospital y Centro de Salud de Escuintla durante los meses de marzo a mayo del 2000 se les realizaron pruebas complementarias para anticuerpos IgM con Elisa y aislamiento en cultivo. El 17% de los pacientes presentaron anticuerpos IgM y no presentaron virus en cultivo el 8% de los de los pacientes se aisló el serotipo Viral Dengue2 y no presentaron anticuerpos IgM y el 2% de los pacientes eran positivos para anticuerpos IgM y al mismo tiempo se les detectó virus Dengue 2 por cultivo.

Esto indica que el diagnóstico definitivo de Dengue lo da el cultivo a pesar de que este estudio el porcentaje de pacientes se les aisló virus en cultivo es bajo. El virus se detectó en su mayoría en los primeros 5 días de evolución de la enfermedad, cuando es fácil de detectarlo a nivel sanguíneo, posteriormente es difícil debido a que migra al sistema reticuloendotelial. Lo anterior nos hace depender de pruebas de laboratorio como Elisa para medir anticuerpos IgM de dengue y confirmar el diagnóstico.

El 73 % de los pacientes fueron negativos para anticuerpos IgM en Elisa y virus dengue en cultivo debido probablemente que presentaron otra enfermedad con los mismo síntomas similares al dengue.

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE SALUD DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA, GUATEMALA

CUADRO 3

Anticuerpos IgM de pacientes que consultaron con cuadro clínico sospechoso de dengue.

Edad	Serología		Anticuerpos IgM+ Virus Dengue 2		Pruebas Negativas para Anticuerpos IgM		Total
	M	F	M	F	M	F	
0-12 M	1						1
1-4 a						3	3
5-14 a	1	4	1		11	8	25
15-24 a	1	3			7	12	23
25-34 a	1	4			6	13	22
35-44 a	1				5	3	13
45-54 a					1	4	5
55-64 a		1			3		4
65-74 a				1	1	1	3
75+ a						1	1
Subtotales	5	12	1	1	34	45	100

Fuente: Boleta de recolección de datos.

CUADRO 3

A los 100 pacientes que consultaron con clínica de dengue se les realizaron pruebas complementarios como medición de anticuerpos IgM por Elisa y aislamiento de viral de dengue por cultivo. Se obtuvieron los siguientes resultados: el 17% de los pacientes presentaron anticuerpos IgM y ausencia de serotipos virales y el 2% de los pacientes presentaron tanto anticuerpos IgM y Aislamiento Viral de Dengue 2 en cultivo.

La mayoría de los pacientes confirmados presentaron anticuerpos IgM lo que explica que luego de la exposición al virus en sangre durante los primeros 5 días de evolución de la enfermedad, los anticuerpos IgM se empiezan a elevar y permanecen elevado de 3 a 6 meses.

En ocasiones en los primeros 5 días de evolución de la enfermedad es posible encontrar títulos de anticuerpos IgM Dengue y al mismo tiempo detectarse virus por cultivo.

Posteriormente a los 5 días de la enfermedad es mas probable encontrar solamente anticuerpos IgM dengue; lo que depender de la serología para el diagnóstico definitivo.

**PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE SALUD DEL
DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA, GUATEMALA**

CUADRO 4

Resultados virológicos de pacientes que consultaron con clínica de dengue.

	Pruebas Positivas				Pruebas Negativas para Virus Dengue2		Total
	Virus Dengue2		Virus Dengue2 + Anticuerpos		M	F	
EDAD	M	F	M	F	M	F	
0-12 M.					1		1
1-4 a		1				2	3
5-14 a	2	2	1		10	10	25
15-24 a		1			8	14	23
25-34 a		2			7	13	22
35-44 a					6	7	13
45-54 a					1	4	5
55-64 a					3	1	4
65-74 a				1	1	1	3
75- +						1	1
TOTALES	2	6	1	1	37	53	100

Fuente: Boleta de recolección de datos.

CUADRO 4

A los 100 pacientes se les realizaron pruebas complementarios como medición de anticuerpos IgM por Elisa y aislamiento de viral, de los cuales únicamente en un 8% se aisló el serotipo viral, por cultivo y no presentaron anticuerpos IgM. El 2% de pacientes tenían anticuerpos IgM positivos y al mismo tiempo se detectó virus Dengue 2 .

De acuerdo a las estadísticas del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social durante los meses de Enero a Junio de este año de 2,975 muestras al 0.30% se le aisló virus Dengue 2 y al 0.03% virus dengue 1, lo cual indica que de los 4 serotipos virales que existen (Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3 y Dengue 4) en el Departamento de Escuintla circulan dos, lo que es un peligro potencial para el apareamiento de dengue hemorrágico.

Según la literatura mundial la presencia de varios factores tales como la presencia de masa crítica de población susceptible, presencia de alta densidad del vector, intervalo de tiempo entre dos infecciones generalmente calculados entre dos y cinco años; secuencia del virus infectante (generalmente aceptada como que el segundo virus infectante debe ser Dengue 2) y alta circulación del virus, resulta en altas tasas de ataque y en consecuencia alto número de personas enfermas.

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE SALUD DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA, GUATEMALA

CUADRO 5

Tiempo de evolución de la enfermedad en pacientes confirmados positivos para Dengue por serología y virología .

TIEMPO DE EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD	SEXO		TOTAL	%
	M	F		
Los primeros cinco días de evolución de la enfermedad	9	15	24	88.88%
Después de 5 días de evolución de la enfermedad	0	3	3	11.11%
Subtotal	9	18	27	100%

Fuente: Boleta de recolección de datos.

CUADRO 5

Se observa que de los 27 pacientes con sintomatología sospechosa de Dengue se confirmaron 24 positivos por serología y aislamiento viral, de los cuales el 88% consultaron en los primeros 5 días de evolución de la enfermedad. Después de los 5 días de la evolución de la existe menos probabilidad de encontrar el serotipo viral a nivel sanguíneo, ya que hay migración al sistema retículo endotelial.

PREVALENCIA DE DENGUE EN EL HOSPITAL Y CENTRO DE SALUD DEL DEPARTAMENTO DE ESCUINTLA, GUATEMALA

CUADRO 6

Síntomas de la enfermedad en pacientes confirmados positivos para dengue por serología y virología.

SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD	M	F	TOTAL
FIEBRE	9	18	27
CEFALEA	8	18	26
MIALGIAS	7	17	24
ARTRIALGIAS	5	18	23
DOLOR RETROORBITARIO	5	10	15
DOLOR ABDOMINAL	2	1	3
DIARREAS	2	1	3
MAREOS	1	1	2
CALOSFRIOS	1	1	2
RASH	1		1

Fuente: Boleta de recolección de datos.

CUADRO 6

En los 27 pacientes que fueron confirmados por serología y aislamiento viral de dengue se presentaron los siguientes síntomas:

- **Fiebre** en un 100% tanto en varones como en mujeres.
- **Cefalea** afectó en un 100% a las mujeres y un 88.88% a los varones.
- **Mialgias** afectaron en un 94.44% a las mujeres y un 77.77% a los varones.
- **Artralgias** afectaron en un 100% a mujeres y un 55.55% a los varones. Hay que considerar que entre los varones consultaron pacientes menores de 5 años de 11 meses que no pueden referir ni cefalea, ni mialgias, ni artralgias.)
- **Dolor retroorbitario** afectó al 55.55% tanto a mujeres como a varones.
- **Dolor abdominal** afectó a un 22.22% de los y a un 5.55% de mujeres todas menores de 5 años de edad.
- **Diarrea** afectó a un 22.22% a varones y a un 5.55% a mujeres todas menores de 5 años.
- **Mareos** afectaron a 11.11% de los varones y 5.55% de las mujeres.
- **Calosfrios** afectaron al 11.11% de los varones y al 5.55% de las mujeres.
- **Rash** afectó al 11.11% de los varones y ninguna mujer presentó tal problema.

VIII. CONCLUSIONES

1. De los casos sospechosos de dengue, se confirmó el diagnóstico en 27% de los mismos.
2. El grupo etareo mas afectado fue de 5 a 14 años de edad y de sexo femenino.
3. De los 100 pacientes estudiados, 17 presentaron anticuerpos positivos para IgM y no se les aisló Virus en el cultivo.
4. Unicamente se logró demostrar el virus por cultivo en 8 pacientes que no presentaron anticuerpos IgM.
5. En este estudio de los 4 serotipos virales de Dengue únicamente se logró aislar el serotipo viral Dengue 2.
6. Dos pacientes eran postivos para anticuerpos IgM Dengue y al mismo tiempo se les detectó virus por cultivo.
7. Los pacientes positivos para Dengue por serología y cultivo, la mayoría llegaron durante los primeros 5 días de evolucion de la enfermedad.

IX. RECOMENDACIONES

1. Es importante que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, divulgue que todo paciente con : fiebre, cefalea, dolor retroorbitario, mialgias y/o artrialgias es necesario que consulte al Centro de Salud para que el personal médico le realice anticuerpos IgM y aislamiento viral para confirmar el diagnóstico de dengue y dar seguimiento y tratamiento al caso.
2. Si además de los síntomas antes mencionados el paciente presenta: epistaxis, sangrado de encías y vomitos de sangre es necesario que acuda de inmediato a los Hospitales Departamentales, para que se realice estudios especiales para descartar diagnóstico de Dengue Hemorrágico.
3. Se recomienda al Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social que brinde el apoyo necesario, tanto a Hospitales como a Centros de Salud departamentales, para que cuenten con el equipo de laboratorio necesario para serología y cultivo viral, lo cual mejorará sustancialmente la vigilancia epidemiológica de la enfermedad y en base a ello se podrán tomar las medidas apropiadas para el control de la enfermedad.

X. RESUMEN

Se realizó un estudio transversal descriptivo con pacientes que consultaron con clínica sospechosa de Dengue al Hospital Nacional y Centro de Salud de Escuintla durante los meses de Marzo a Mayo del 2000.

A los pacientes se les realizó bases complementarias de serología y aislamiento viral de Dengue en el laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

La muestra estudiada fue de 100 pacientes encontrando que el grupo etareo mas afectado fue el de 5 a 14 años de edad en un 25% de los casos lo que significa que la enfermedad puede afectar a pacientes en edad predominando el sexo femenino.

El 17% fueron seropositivos para IgM y no se les aisló virus por cultivo, se logró demostrar el virus por cultivo en 8% de los pacientes todos seronegativos. El 2% de los pacientes tenían serología positiva para dengue y al mismo tiempo se les aisló virus por cultivo.

De los cuatro seotipos virales de dengue que existen (dengue 1, dengue 2, dengue 3, dengue 4) únicamente se logró aislar el virus dengue 2 .

De los pacientes confirmados positivos por serología y por cultivo la mayoría llegó durante los primeros 5 días de la enfermedad.

Se recomienda fortalecer la capacitación, la infraestructura y equipo de los servicios de salud, para una mejor vigilancia de la enfermedad y lograr así mejores medidas de prevención y control.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Centro de Investigaciones de Ciencias de la Salud (USAC), **CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DEL DENGUE EN AREAS ENDÉMICAS DE GUATEMALA**. Guatemala 1994.
2. Chungue E. **DENGUE AND DENGUE HAEMORRHAGIC FEVER IN FRENCH POLYNESIA-CURRENT SITUATION**. Trop Med. 1993 :35(4).209-215.
3. Igarashi A, Mohamed H, Yosof A, et al. **PRODUCTION OF TYPE 2 DENGUE (D2) MONOCLONAL ANTIBODY AND CELL CULTURE DERIVED D2 ANTIGEN FOR USE IN DENGUE LGM-CAPTURE ELLISA**. Trop Med 1995, 37 (4), 165-173.
4. Kanashiro R, Igarashi A. **DENGUE IGM-CAPTURE ELLISA USING HEAT-INACTIVE AND UNHEATED CONTROL ANTIGENS PREPARED AS INFECTED C6/C36 CELL CULTURE FLUID**. Trop Med 1998; 40 (3), 149-156.
5. Mohamed H, Cadosa J, Tanaka H, et al. **COMPARATIVE ASSAY ON DE IGELLISA USING REAGENTS FROM 2 SOURCES**. Trop Med 1995;37 (3), 109-114.
6. Mohamed H, Castillo L, Sinniah M., ct al. **ELEVATED INCUBATION TEMPERATURE ENHANCED ANTIGEN PRODUCTION OF DENGUE TYPE 2 AND 3 VIRUSES IN THE INFECTED ALBOPICTUS CLONE C6/36 CELL CULTURES**. Trop Med 1995;37(I), 21-27
7. Organización Panamericana de la Salud (OPS). **DENGUE Y DENGUE HEMORRÁGICO EN LAS AMÉRICAS: Guías para su Prevención Publicación Científica No. 548** Washigton (DC) 1995.

8. Rosario D, Alvarez M, Díaz J, et al **REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA Y DETERMINACIÓN DEL SEROTIPO DE VIRUS DEL DENGUE EN MUESTRAS CLÍNICAS.** Rev. Panam Salud Publica/PanAm J Public Health 1998; 4(1).
9. Sucharit S. Surathin K, Komalamisra N, et al. **THE DISCRIMINATIVE INFECTION OF DENGUE VIRUS IN AEDES AEGYPTI AT AUBSPECIFIC LEVEL.** Trop Med 1997; 36(3/4), 75-80.
10. Suwonkerd W, Tsuda Y, Takagi M, Wada Y. **SEASONAL OCURRENCE OD AEDES AEGYPTI AND AE. ALBOPICTUS IN USED TIRES IN 1992-1994,** Chíangmai,Thailand. Trop Med 1996;38(3/4), 101-105.
11. Takomeoka Y, Hirota N, Kobayashi M, at al. **DENGUE VIRUS TYPE 2 UNRESPONSIVE TO THEC CURRENT PCR PRIMER; CONSTRUCTION OF A NEW PCR PRIMCR TO DETECT ALL STRAINS OF DENGUE VIRUS TYPE 2.** Trop Med 1995;37(2), 65-72.
12. Thant K Aaye K, Thein S, et al. Application of IgM-Capture Elisa on Myanmar Dengue Patients Serum Samples Collected in 1994. Trop Med 1996;38(1), i-6.
13. Valdés L. Guzmán M, Kourí G, et al. La Epidemiología del Dengue y del Dengue Hemorrágico en Santiago de Cuba 1997. Rev. Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health 1999;6(1).
14. Vásquez S, Sáenz E, Huelva G, et al. **DETECCIÓN DE LGM CONTRA EL VIRUS DEL DENGUE EN SANGRE ENTERA ABSORBIDA EN PAPEL DE FILTRO.** Rev. Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health 1998;3(3).

XII. ANEXOS

UNIVERSIDA DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

UNIDAD DE TESIS

BOLETA DE RECOLECCION DE DATOS

FECHA_____LUGAR_____

NOMBRE DEL PACIENTE_____

PROCEDENCIA_____

EDAD_____ **SEXO:** MASCULINO_____ FEMENINO_____

MOTIVO DE LA CONSULTA: _____

SINTOMATOLOGIA CLINICA:_____

EXAMEN FISICO: _____

EXAMENES DE LABORATORIO

MACELLISA: POSITIVO () NEGATIVO ()

CULTIVO:

RESPONSABLE BACHILLER RAFAEL LORENZO CORADO

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
FASE II: LABORATORIO MULTIDISCIPLINARIO

PAPELETA DE SOLICITUD DE AUTORIZACION DEL PACIENTE

NOMBRE DEL PACIENTE: _____

_____ CEDULA No. _____

AUTORIZO AL BACHILLER RAFAEL LORENZO CORADO

PARA EXTRAERME 5 cc. DE SANGRE PARA ESTUDIAR SI ESTOY

INFECTADO CON VIRUS DE DENGUE.

FIRMA _____

FECHA _____

LUGAR: HOSPITAL NACIONAL REGIONAL DE ESCUINTLA ()

CENTRO DE SALUD DE ESCUINTLA ()

