



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:**

**“DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA  
COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL  
DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN  
PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD  
MÉDICA ASISTENCIAL” DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciado en Laboratorio Clínico.

**Autor:** Quilligana Jogacho, Carlos Homero

**Tutor:** Dr. Mg. Noriega Puga, Vicente Rubén

Ambato – Ecuador

Noviembre 2016

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En mi calidad de Tutor del Proyecto de Investigación sobre el tema:

“DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL” DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS de Quilligana Jogacho Carlos Homero, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Septiembre del 2016

EL TUTOR

.....

Dr. Mg. Noriega Puga, Vicente Rubén

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO**

Los criterios emitidos en el Proyecto de Investigación “DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL” DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autor del Trabajo de Grado.

Ambato, Septiembre del 2016

EL AUTOR

.....

Quilligana Jogacho, Carlos Homero

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

Ambato, Septiembre del 2016

EL AUTOR

.....

Quilligana Jogacho, Carlos Homero

## **APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR**

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación, sobre el tema “DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL” DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS” de Quilligana Jogacho, Carlos Homero estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Noviembre del 2016

Para constancia firman

.....

PRESIDENTE/A

.....

1er VOCAL

.....

2do VOCAL

## **DEDICATORIA**

Dedicado a Dios y a mi madre, por permitirme llegar a este momento tan especial e inolvidable en mi vida, por los grandes y difíciles momentos en los cuales me ha bendecido para seguir triunfando, para ti querido padre que me ha sabido guiar por el camino del bien a pesar de tantas adversidades, quien ha sido el pilar fundamental en toda mi carrera estudiantil, y me ha enseñado a valorar el esfuerzo diario por el bienestar de la familia.

A mi esposa que quien con su amor, cariño y dedicación incondicional día a día, que me ha dado fuerzas para seguir adelante con mis metas y objetivos propuestos.

Para mis hermanos por su apoyo incondicional, en todo momento.

Quilligana, Carlos

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecer a la Universidad Técnica De Ambato por haber permitido ser parte de tan prestigiosa institución, así como también a todos los docentes quienes supieron impartir sus conocimientos.

Un agradecimiento especial a los docentes Dr. Mg. Vicente Noriega y Lic. María Elena Castillo quienes a pesar de tantas dificultades han sabido guiar y brindar su apoyo y asesoría incondicional para la culminación de este proyecto.

Y finalmente agradezco a mi familia y amigos por los recuerdos y experiencias recogidas en largo del camino.

Quilligana, Carlos

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

PORTADA.....	I
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO .....	iii
DERECHOS DE AUTOR .....	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vii
RESUMEN.....	xii
SUMMARY .....	xiii
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA .....	2
1.1. TEMA. ....	2
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	2
1.2.1. CONTEXTO .....	2
1.3. FORMULACIÓN DE PROBLEMA .....	5
1.4. JUSTIFICACIÓN: .....	5
1.5. OBJETIVOS .....	6
1.5.1. OBJETIVO GENERAL.....	6
1.5.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS .....	6
CAPÍTULO II .....	8
MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 ESTADO DE ARTE: .....	8
2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO .....	12
2.2.1. ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA (PDW) .....	12
2.2.1.1 PLAQUETAS O TROMBOCITOS .....	12
2.2.1.2 ÍNDICES PLAQUETARIOS. ....	13
2.2.1.3 DESARROLLO DE LAS CÉLULAS PRECURSORAS DE LAS PLAQUETAS. ....	14
2.2.1.4 MADURACIÓN DE LA PLAQUETA .....	15
2.2.1.5 MORFOLOGÍA DE LAS PLAQUETAS.....	18
2.2.1.6 ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DE LAS PLAQUETAS. ....	20
2.2.1.7 ALTERACIONES EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA. ....	21
2.2.1.8 TÉCNICAS Y MÉTODOS UTILIZADOS PARA EL CONTAJE DE PLAQUETAS. ....	22



2.2.1.8.1	CONTAJE MANUAL POR MÉTODO REES – ECKER .....	22
2.2.1.8.2	CONTAJE DE PLAQUETAS MEDIANTE COLORACIÓN WRIGHT	24
2.2.1.8.3	INTERPRETACIÓN CLINICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS	25
2.2.2.	FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DE DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA.....	26
2.2.2.1	FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DE DENGUE HEMORRÁGICO ...	26
2.2.2.1.1	DEFINICIÓN.....	27
2.2.2.1.2	ETIOLOGÍA.....	27
2.2.2.1.3	LOS VIRUS DEL DENGUE Y LA RESPUESTA DEL HUÉSPED .....	27
2.2.2.1.4	DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA DEL DENGUE .....	28
2.2.2.1.5	EPIDEMIOLOGÍA.....	28
2.2.2.1.6	FISIOPATOLOGÍA.....	30
2.2.2.1.7	FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE DENGUE. .	31
2.2.2.1.8	MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	32
2.2.2.1.9	CLASIFICACIÓN DEL DENGUE.....	33
2.2.2.1.10	DIAGNÓSTICO DE DENGUE .....	35
2.2.2.1.11	DATOS-CLAVE PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMOS CON DENGUE	37
2.2.2.1.12	PREVENCIÓN .....	40
2.2.2.2	CHIKUNGUNYA. ....	40
2.2.2.2.1	SIGNOS Y SÍNTOMAS.....	41
2.2.2.2.2	TRANSMISIÓN .....	41
2.2.2.2.3	CHIKUNGUNYA Y SUS SISTEMAS.....	42
2.2.2.2.4	MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y COMPLICACIONES.....	43
2.2.2.2.5	DIAGNÓSTICO .....	44
2.2.2.2.6	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	45
2.2.2.2.7	TRATAMIENTO.....	45
2.3	HIPÓTESIS O SUPUESTOS .....	45
	CAPÍTULO III.....	46
	MARCO METODOLÓGICO .....	46
3.1.	NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	46
3.2.	SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO .....	46
3.3.	MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	47
3.4.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	47

3.4.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	47
3.4.2	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	48
3.5.	DISEÑO MUESTRAL .....	48
3.6.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	48
3.6.1	TABLA N°1. VARIABLE INDEPENDIENTE: .....	49
3.6.2	TABLA N° 2. VARIABLE DEPENDIENTE.....	50
3.7.	DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	51
3.7.1.	PROTOCOLO BIBLIOGRÁFICO.....	51
3.7.2.	PROTOCOLO INSTITUCIONAL.....	51
3.7.3.	PROTOCOLO DE TÉCNICAS, PROCEDIMIENTOS E INSTRUMENTOS.....	52
3.7.3.1.	ÁREA DE HEMATOLOGÍA, PROCESAMIENTO DE MUESTRAS. 54	
3.7.3.1.1.	CONTAJE MANUAL POR MÉTODO REES – ECKER .....	54
3.7.3.2.	ÁREA DE INMUNOLOGÍA, PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.. 56	
3.7.3.2.1.	PRUEBA RÁPIDA EN CASETE ONSITE DENGUE IGG/IGM.....	57
3.7.3.2.2.	PRUEBA RÁPIDA EN CASETE ONSITE CHIKUNGUNYA IGM ...	60
3.8.	ASPECTOS ÉTICOS.....	62
	CAPÍTULO IV.....	63
	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	63
4.1	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	63
	TABLA N° 3. POBLACIÓN TOTAL .....	63
	FIGURA N° 1. POBLACIÓN TOTAL.....	63
	TABLA N° 4. PACIENTES CON FIEBRE DEL DENGUE SEGÚN SU EDAD....	64
	FIGURA N°2. PACIENTES CON FIEBRE DEL DENGUE SEGÚN LA EDAD ...	65
	TABLA N° 5. PACIENTES CON CHIKUNGUNYA SEGÚN EDAD.....	65
	FIGURA N°3. PACIENTES CON CHIKUNGUNYA SEGÚN LA EDAD.....	66
	TABLA N° 6. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A LA FIEBRE DEL DENGUE. 66	
	FIGURA N° 4. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A LA FIEBRE DEL DENGUE. 67	
	TABLA N° 7. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A CHIKUNGUNYA. 68	
	FIGURA N° 5. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A CHIKUNGUNYA. 68	
	TABLA N°8. DESVIACIÓN MEDIA DE MPV Y PDW EN RELACIÓN A FIEBRE DEL DENGUE Y CHINKUNGUNYA.....	69

FIGURA N° 6. DESVIACIÓN DE MPV Y PDW EN RELACIÓN A FIEBRE DEL DENGUE Y CHINKUNGUNYA.....	69
4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	70
4.2.1 PLANTEO DE LA HIPÓTESIS:.....	70
4.2.2 ESTIMADOR ESTADÍSTICO: .....	70
4.2.3 NIVEL DE SIGNIFICANCIA Y REGLA DE DECISIÓN: .....	71
4.2.4 CÁLCULO DEL ESTIMADOR ESTADÍSTICO DE COEFICIENTE DE VARIACIÓN .....	71
TABLA N°9. MATRIZ CRUZADA.....	71
4.3 CONCLUSIONES GENERALES.....	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
BIBLIOGRAFÍA .....	74
LINKOGRAFIA. ....	74
CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASE DE DATOS UTA.....	78
ANEXOS.....	80
GRÁFICO N°1. MADURACIÓN DE LOS MEGACARIOCITOS.....	80
GRÁFICO N°2. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LAS PLAQUETAS.....	80
GRÁFICO N°3. DISTRIBUCIÓN DEL DENGUE.....	81
ANEXO N° 1. RESULTADOS OBTENIDOS DE LABORATORIO.....	82
ANEXO N° 2. AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO PARA REALIZAR EL PROYECTO.....	87
ANEXO N°3. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	88
ANEXO N°4. INSERTO DE DENGUE PÁG. 1.....	89
ANEXO N° 5. INSERTO DE DENGUE PÁG. 2.....	90
ANEXO N°6. INSERTO DE CHIKUNGUNYA PÁG. 1.....	91
ANEXO N°7. INSERTO DE CHIKUNGUNYA PÁG. 2.....	92
ANEXO N°8. FOTOGRAFÍAS .....	93
FOTOGRAFÍA N°1. CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL” .....	93
FOTOGRAFÍA N° 2. FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	93
FOTOGRAFÍA N° 3. TOMA DE MUESTRA .....	94
FOTOGRAFÍA N° 4. PRUEBAS RÁPIDAS PARA FIEBRE DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA.....	94
FOTOGRAFÍA N° 5. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.....	95
FOTOGRAFÍA N°6. LECTURA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	95
FOTOGRAFÍA N° 7. CONTROLES DE EQUIPO HEMATOLÓGICO. ....	96

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**“DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA  
COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL  
DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN  
PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD  
MÉDICA ASISTENCIAL” DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS”**

**Autor:** Quilligana Jogacho, Carlos Homero

**Tutor:** Noriega Puga, Vicente Rubén

**Fecha:** Septiembre del 2016

**RESUMEN.**

El presente proyecto de investigación se ejecutó para determinar el Ancho de Distribución Plaquetaria en los casos positivos de Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya. El Ecuador al ser un país con biodiversidad climática y poseer diferente regiones como son la región costa y la amazonia áreas en donde existe la mayor proliferación de vectores causantes de estas enfermedades víricas, siendo con mayor frecuencia en las épocas lluviosas.

En la amazonia se ha encontrado un número significativo de casos de estas enfermedades. Según los análisis de laboratorio se ha observado una disminución del conteo total de plaquetas en los pacientes que presenten fiebre del dengue y Chikungunya.

El objetivo de esta investigación es determinar el grado de anisocitosis plaquetaria para lo cual se trabajó con un total de 115 personas sin exclusión de etnia, edad, sexo, religión etc., los cuales fueron 105 personas diagnosticados con Fiebre del Dengue y 10 personas fueron diagnosticados con Chikungunya

**PALABRAS CLAVES:** DISTRIBUCIÓN\_PLAQUETARIA, FIEBRE\_DENGUE, DENGUE HEMORRÁGICO, CHIKUNGUNYA.

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**"DETERMINATION OF PLATELET DISTRIBUTION WIDTH MARKER AS  
TIMELY AND DIFFERENTIAL BETWEEN DENGUE FEVER, DENGUE  
FEVER HEMORRHAGIC CHIKUNGUNYA IN PATIENTS TREATED IN  
THE HEALTH CENTER TYPE C" MEDICAL CARE UNIT "JEWEL OF  
CANTON SACHAS"**

Author: Quilligana Jogacho, Carlos Homero

Tutor: Noriega Puga, Vicente Rubén

Date: September 2016

**SUMMARY.**

This research project was carried out to determine the platelet distribution width positive cases of dengue fever, dengue hemorrhagic fever and chikungunya. The Ecuador as a country with biodiversity and climate have different regions such as the Amazon region and coastal areas where there is the greatest cause proliferation of vectors of these viral diseases, being more frequently in rainy seasons.

In the Amazon it found a significant number of cases of these diseases. According to laboratory tests there has been a decrease in the total count of platelets in patients presenting dengue fever and Chikungunya.

The objective of this research is to determine the degree of platelet anisocytosis for which we worked with a total of 62 people without exclusion of ethnicity, age, sex, religion etc., which were 105 people diagnosed with dengue fever and 10 people were diagnosed with Chikungunya

**KEYWORDS: PLATELET DISTRIBUTION, DENGUE FEVER, DENGUE HEMORRHAGIC, CHIKUNGUNYA.**

## INTRODUCCIÓN

En la presente investigación se busca determinar el Ancho de Distribución Plaquetaria como marcador oportuno y diferencial entre Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico que son enfermedades virales producida por el arbovirus, género flavivirus, Familia Flaviviridae, y Chikungunya que es causado por el arbovirus del género alfavirus, familia Togaviridae transmitida por la picadura del mosquito hembra *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Cuando el mosquito se alimenta con sangre de una persona infectada por este virus y luego pica a otras personas les transmite esta enfermedad.

El contagio sólo se produce por la picadura de los mosquitos infectados, nunca de una persona a otra, ni a través de objetos de la leche materna. Sin embargo, aunque es poco común las mujeres embarazadas pueden contagiar a sus bebés durante el embarazo

Los mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* son los principales vector de los virus que causan Fiebre del Dengue y Chikungunya. Los seres humanos se infectan por picaduras de hembras infectadas, que a su vez se infectan principalmente al succionar la sangre de personas infectadas.

El virus infecta el intestino medio del mosquito y luego se extiende hasta las glándulas salivales en un período de entre 8 y 12 días. Tras este período de incubación, el mosquito puede transmitir el virus a las personas al picarlas con fines exploratorios o alimentarios.

Las dos enfermedad virales producidas por los mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* se caracteriza por producir un importante fatiga, dolor de cabeza intenso, fiebre, malestar general, dolor de huesos, dolor en las cuencas oculares, falta de apetito y en la mayor parte de los casos la aparición de un ligero sarpullido en la piel. Además esto lo puede llevar a un descenso alarmante del contaje de plaquetas y a un cuadro mucho más complicado como es la Fiebre del Dengue Hemorrágico.

## **CAPÍTULO I**

### **EI PROBLEMA**

#### **1.1.TEMA.**

DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL” DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS.

#### **1.2.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

##### **1.2.1. CONTEXTO**

A nivel mundial la picadura del mosquito infectado *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* viene causando grandes epidemias en las áreas tropicales y subtropicales de la población, El *Aedes aegypti* es el vector que transporta el virus del Dengue y el *Aedes albopictus* la Chikungunya, las dos enfermedades que preocupan en América Latina y que constituyen una epidemia. La Fiebre del Dengue (fiebre rompe-huesos) y la Fiebre del Dengue Hemorrágico son enfermedades víricas febriles causada por la gestión de variantes de virus del genero flavivirus y transmitida por la picada de la hembra del mosquito *Aedes aegypti* (1).Los virus del Dengue son flavirirus transmitidos por mosquitos que no requieren reservorio animal, existiendo el denominado ciclo urbano, que se mantiene entre hombre y mosquito, la Fiebre de Dengue se expandió a través

de las rutas comerciales en los siglos XVII y XIX, siendo a principios del siglo XX un problema importante en los países tropicales (2).

A pesar de que el Dengue se conoce como entidad clínica desde hace más de dos siglos y del conocimiento acumulado en el transcurso de los últimos años, esta arbovirus continúa siendo hoy uno de los principales problemas de salud mundial y constituye uno de los mayores retos de salud pública en el milenio actual (3), así como también en la región de las Américas, la fiebre causada por el virus Chikungunya, ha sido notificada recientemente. Al ser una enfermedad emergente y ante la presencia del mismo mosquito transmisor, el *Aedes aegypti* (4).

La situación epidemiológica del Dengue y Chikungunya sigue siendo de alta complejidad en La Región de América y en el mundo, lo que obliga a redoblar los esfuerzos para la implementación de una estrategia de gestión integrada y dar respuesta. En el período del 2001 al 2006 se notificaron 3 419,919 casos de Fiebre del Dengue, incluidos 79 664 casos de Fiebre del Dengue Hemorrágico y 982 defunciones en Las Américas, con una tasa de letalidad de 1,2 % y la circulación de los 4 serotipos (Dengue 1, 2, 3, 4), lo que aumenta el riesgo de aparición de las formas más graves de la enfermedad (5).

En el Ecuador el Dengue representa un prioritario y creciente problema de salud pública en el contexto de las enfermedades transmitidas por vectores, mostrando un comportamiento endemo-epidémico desde su aparición a finales de 1988; año que a partir del cual, de manera progresiva y en concordancia con la dispersión del vector y la circulación de nuevos serotipos virales, se han registrado varios ciclos epidémicos.

La persistencia de la transmisión de la enfermedad está asociada a determinantes sociales, económicos, ambientales y culturales que en mayor o menor magnitud están presentes en aproximadamente el 70% de la extensión territorial del país, donde se estima habitan 8 220.000 habitantes que están en riesgo de enfermar por esta patología (6).

La transmisión del Dengue se mantiene de manera endémica durante todo el año y los ciclos epidémicos generalmente coinciden con la temporada de lluvias, donde se dan las condiciones propicias para la explosiva reproducción del *Aedes aegypti* y *Aedes*



*albopictus* vectores de las enfermedades, en una serie de recipientes con agua estancada que se encuentran en las viviendas (7).

La Chikungunya es una enfermedad causada por el virus del mismo nombre, que se transmite a través de la picadura del mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* al igual que el Dengue. Se caracteriza por provocar fiebre alta y dolores intensos en articulaciones de manos, pies y rodillas, así como náuseas, dolor de cabeza y espalda, manchas en la piel. Aunque su letalidad es baja, puede presentar como secuelas dolores de articulaciones que pueden durar meses o hasta dos años (8). El riesgo de que ocurra es en “todo el país” dada la presencia de casos de dengue reportados a escala nacional, sin embargo es más grave en lugares donde la presencia del mosquito es habitual (7).

En la actualidad la confirmación de laboratorio se realiza mediante pruebas que para detectar la presencia del virus, como es el aislamiento viral y pruebas moleculares o la determinación de anticuerpos a través de pruebas serológicas, La determinación de anticuerpos IgM e IgG mediante pruebas rápidas son de utilidad para determinar si se trata de una infección primaria o secundaria; además, los estudios de IgG pueden determinar si a pesar de tratarse de una infección secundaria, también hay una infección reciente (9), y en el momento actual la causa más temida es el “quebrantahuesos” o Dengue, virus que puede disminuir peligrosamente las cifras de plaquetas, por cual conviene hospitalizarse para vigilar esa cifra de plaquetas que puede descender con riesgo de hemorragia (10).

En vista de que el Dengue y la Chikungunya presentan prácticamente los mismos síntomas, es casi seguro que el paciente no sepa diferenciar si lo que padece es una o la otra. Ambas afecciones presentan fiebre, dolor muscular, erupciones cutáneas, entre otros signos. Y aunque no es muy fácil distinguirlas, puesto que al paciente debe practicársele pruebas específicas para cada una, la frecuencia de los síntomas, puede variar (11).

Actualmente en el Ecuador siendo un país endémico de estas enfermedades no existen investigaciones sobre Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya y sus cuadros clínicos en relación al ancho de distribución plaquetaria, de acuerdo a criterio de varios profesionales salud se ha observado una gran necesidad

de realizar estudios o exámenes relacionados con la respuesta inmunológica del ser humano frente a estas enfermedades víricas, en la mayoría de los casos se han visto alterados varios exámenes de laboratorio como son glóbulos blanco, glóbulos rojos, plaquetas y transaminasas, por lo cual se procede a realizar la investigación en una población que presenta un alto índice de estas enfermedades tropicales.

### **1.3.FORMULACIÓN DE PROBLEMA**

¿Los valores de la determinación del ancho de distribución plaquetaria tendrán una variación entre la Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya?

### **1.4.JUSTIFICACIÓN:**

Ésta investigación es importante ya que la determinación del ancho de distribución plaquetaria es un marcador oportuno y diferencial entre Fiebre del Dengue, fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya para poder dar un diagnóstico acertado logrando que la técnica aplicada sea tomado en cuenta como un examen más de rutina en los diferentes laboratorios públicos y privados, logrando seleccionar el tratamiento adecuado, eficiente y eficaz cuando haya sospecha de Dengue y fiebre Chikungunya.

Siendo factible ya que se cuenta con el número de pacientes adecuados, el material bibliográfico e instrumentos necesarios para desarrollar la investigación, brindando así la confiabilidad suficiente en las pruebas de laboratorio que ayuden al diagnóstico del tipo de Dengue y fiebre Chikungunya.

Ésta investigación tiene gran impacto ya que se encuentra enfocada, en la determinación del ancho de distribución plaquetaria y su relación con Fiebre de

Dengue, Fiebre de Dengue Hemorrágico y Chikungunya. Por eso es importante establecer resultados confiables para tomar acciones correctivas de ayuda para el médico en el tratamiento.

Esta investigación es original y de carácter científico debido a que se ha encontrado un gran número de pacientes con esta enfermedad y no existe estudios previos sobre la determinación del ancho de distribución plaquetaria como ayuda a un diagnóstico diferencial entre Fiebre de Dengue, Fiebre de Dengue Hemorrágico y Chikungunya a nivel nacional.

## **1.5.OBJETIVOS**

### **1.5.1. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar del ancho de distribución plaquetaria como marcador oportuno y diferencial entre Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya en pacientes atendidos en el Centro de Salud Tipo C “Unidad Médica Asistencial”

### **1.5.2. OBJETIVO ESPECÍFICOS**

- Determinar los índices plaquetarios como marcador oportuno y diferencial entre fiebre del dengue y fiebre del dengue hemorrágico.
- Determinar los índices plaquetarios como ayuda diagnóstica para Chikungunya.

- Cuantificar mediante datos de laboratorio el número de pacientes que presenten Chikungunya.
  
- Evaluar la anisocitosis plaquetaria mediante el PDW y MPV en pacientes que presentan Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ESTADO DE ARTE:

En la investigación realizada por María Guillen con el tema: “*Valores referenciales de recuento de plaquetas en la población Estudiantil masculina de 12 a 19 años de los colegios Fiscales de la ciudad de Loja*” realizada en el año 2011. La población estuvo constituida por 524 estudiantes de sexo masculino. El parámetro a tomar en cuenta fue plaquetas, El objetivo de éste estudio fue identificar los valores hematológicos referenciales de plaquetas en una población adolescente aparentemente sana y representativa de la población general, para obtener así las frecuencias de distribución de estos parámetros en la población estudiada (12).

El análisis de los resultados se realizó en el programa estadístico de EPI-INFO 6, el mismo que nos permitió establecer una media y desviación estándar de la variable de recuento plaquetas, arroja los siguientes datos: que 283 estudiantes (54.0%) presentan un rango de 260.000 – 450.000 plaquetas /mm<sup>3</sup>, y 241 estudiantes (46.0%) presentan un rango de 150.000 - 260.000 plaquetas /mm<sup>3</sup> de sangre, de acuerdo a esta investigación se obtuvo las siguientes conclusiones:

- Se establecieron los valores referenciales de recuento de plaquetas en la población estudiantil masculina de 12 a 19 años los colegios fiscales diurnos del sector urbano de la ciudad de Loja mediante métodos de análisis automatizados, aplicando protocolos estandarizados, cuyos valores fueron de 155.600 – 364.400/mm<sup>3</sup>.
- Se elaboró una base de datos mediante el programa EPI-INFO6 con los resultados obtenidos de los estudiantes participantes en el estudio tomando para ello en consideración los criterios de inclusión y exclusión estimados en esta investigación.

- Se realizó un programa para la disertación de los resultados por medio de la coordinación de la carrera de laboratorio clínico contando con la participación de estudiantes y docentes de la carrera y del Área de la Salud Humana, en el mismo se entregó un tríptico informativo acerca de este trabajo investigativo, y de esa manera se difundieron los resultados (12).

En la investigación realizada por Diana Ordóñez con el tema: “*Determinación de dengue mediante detección de Inmunoglobulina M y su relación en la alteración del perfil hepático de los pacientes que acuden al hospital Teófilo Dávila del cantón Machala en el periodo octubre 2012 abril 2013*” se realizó con una muestra de 100 pacientes que presentaron sintomatología compatible con diagnóstico de Dengue, de los cuales un 30 de ellos se confirmó la presencia de la IgM-Dengue, todos estos pacientes presentan valores elevados en las pruebas del perfil hepático, confirmando de ésta manera que en los pacientes con Dengue es frecuente el daño hepático, luego de esta investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

- Mediante el presente estudio, la infección por el virus del Dengue fue detectada gracias al método Inmunocromatográfico para la detección IgM-Dengue en el 30% de los 100 pacientes estudiados con sintomatología compatible a esta enfermedad que acudieron a recibir atención primaria en el hospital Teófilo Dávila.
- La correlación entre la presencia del virus del Dengue y la alteración de las pruebas hepáticas, se realizó mediante la medición serológica de la concentración sanguínea de los parámetros que conforman el perfil hepático, obteniendo como resultado que los concentraciones que presentaron los valores más elevados fueron los de TGP, GGT y FA en el 96.67% de la población, seguido de los valores de TGO junto con los de BT y BD en un 93.33% y 86.67% respectivamente y tan solo el 3.33% de la población presento resultados elevados de BI, lo que evidencia que el daño hepático es característico de esta patología.
- Los pacientes infectados por el virus del Dengue entre 41 a 65 años corresponden al grupo etario que presentaron los resultados más elevados en las pruebas del perfil hepático, es decir el grupo más afectado de la población estudiada lo que los clasifica como un grupo vulnerable para la evolución de la enfermedad viral.
- Dentro de la clasificación de los pacientes por género para determinar el grupo que presenta mayor incidencia en contraer Dengue, fue el género femenino como el

más afectado representando un 63.3% de la población estudiada frente al 36.6% que representa la población masculina, lo que clasifica a las mujeres como un grupo vulnerable a contraer Dengue (13).

En la investigación realizada por Julia Arias en el año 2011 con el tema: “*Análisis de la respuesta inmunitaria inflamatoria en la infección por el virus dengue y su significancia clínica*” Se estudiaron 30 pacientes, 16 (53,3%) mujeres y 14 (46,7%) hombres con edad media de  $14,27 \pm 8,8$  años (mínimo: 1 año y máximo: 39 años) con diagnóstico clínico, serológico y/o virológico de dengue. Y se trazaron los siguientes objetivos en base a los pacientes con diagnóstico clínico, serológico y virológico de infección por virus dengue se investigará durante su seguimiento clínico: La concentración sérica de citoquinas pro-inflamatorias  $TNF\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IL-6$ ,  $IL-12$  e  $IL-17$ , citoquinas anti-inflamatorias  $sTNF-RI$ ,  $sTNF-RII$  y el  $IL-1RL1/ST2$ ; y el marcador de apoptosis TRAIL. Estudio de la significancia clínica de las alteraciones del sistema inmunitario encontradas, con énfasis en sus fases evolutivas y severidad de la enfermedad. Estudio de la posible relación de las alteraciones del sistema inmunitario encontrados con el serotipo viral infectante y tipo de infección. Análisis del estado funcional de las células monocitarias del paciente. Análisis del estado de supervivencia/apoptosis de las células monocitarias del paciente (14).

Fueron ordenados según la clasificación revisada de Dengue (OMS, 2009), en 12 (40%) pacientes con DSSA los cuales evolucionaron a la curación espontánea; 10 (33%) con DCSA caracterizados por la presencia de más de dos signos de alarma y 8 (27%) con DG los cuales presentaron dolor abdominal intenso y continuo, vómitos, derrame pleural (ascitis), hepatomegalia, vasculopatía y/o hemorragias.

La evaluación tanto de parámetros inmunológicos como clínicos, fue realizada en tres fases evolutivas de la enfermedad: fase aguda (FA), fase de recuperación precoz (FRP) y fase de recuperación tardía (FRT). Se observó leucopenia marcada ( $p < 0,01$ ) en todos los pacientes con dengue en la FA al compararlos con los grupos control y OIVF, independientemente de la severidad de la afectación; alcanzando los límites normales en la FRP manteniéndose hasta la FRT.

En cuanto al conteo total de plaquetas, no se objetivó trombocitopenia en los pacientes con DSSA en la FA, a pesar que los niveles fueron estadísticamente diferentes a los

grupos control ( $p < 0,05$ ) y OIVF ( $p < 0,01$ ). En los pacientes con DCSA y DG fue evidente el descenso de las plaquetas con respecto a los grupos control ( $p < 0,01$ ) y OIVF ( $p < 0,001$ ), normalizándose los valores en la FRP hasta la FRT.

Con respecto a los tiempos de coagulación, el TPT se apreció alargado ( $p < 0,001$ ) tanto en la FA de pacientes con DCSA como en los casos de DG comparados con el grupo control, no así en el resto de las fases evolutivas. Los valores de glicemia y creatinina no se encontraron alterados en estos pacientes; sin embargo, hubo diferencias ( $p < 0,01$ ) entre los DG en FA con el grupo control. Entre las pruebas de funcionalismo hepático se midió AST y ALT, observándose elevación de ambas enzimas, a predominio de AST. Las dos enzimas incrementaron significativamente ( $p < 0,001$ ) en los casos de DCSA y DG tanto en FA como en la FRP con respecto al grupo control, hasta normalizarse en la FRT; también los valores de ALT fueron elevados ( $p < 0,001$ ) en los pacientes con DSSA en FA comparados con el grupo control hasta equipararse los valores en la FRT.

De los 30 pacientes estudiados 24 (80%) resultaron positivos a la presencia del virus, de los cuales 5 (21%) fueron infecciones por DENV-1, 8 (33%) por DENV-2, 5 (21%) DENV-3 y 6 (25%) casos de DENV-4. Así mismo se determinó, que de los 12 pacientes con DSSA, 9 (75%) fueron positivos a la presencia de IgM anti-Dengue y 11 (91,6%) presentaron anticuerpos IgG anti-Dengue; de los 10 con DCSA 8 (80%) se comprobaron positivos para IgM anti-Dengue y 10 (100,0%) para IgG y de los 8 que cursaron con DG, 100,0% fueron positivos para la presencia de IgM e IgG anti-Dengue. También, de los 12 con DSSA, 5 presentaron infección primaria y 7 secundaria, de los 10 con DCSA, 3 con infección primaria y 7 con infección secundaria y de los 8 que cursaron con DG, todos (100,0%) presentaron infección secundaria.

Del estudio sobre los niveles circulantes de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-17, IL-1 $\beta$ ), anti-inflamatorias (sTNF-RI, sTNF-RII, IL-1RL1/sST2), el marcador de apoptosis TRAIL y apoptosis en pacientes con dengue, se concluye que:

- La infección por el virus Dengue produce un aumento significativo de las siguientes citoquinas pro-inflamatorias IL-6, TNF $\alpha$ , IL-12 e IL-17, pero no de IL-1 $\beta$  que se objetivan en la fase aguda con posterior normalización hasta la FRT. La



intensidad del cuadro clínico se asocia a un diferente patrón de elevación de las mencionadas citoquinas.

- El patrón de alteración de los niveles circulantes del TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-17 es similar en las infecciones producidas por los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus DEN, pero los de IL-12 aumentan selectivamente en las producidas por DENV-1 y DENV-3.
- La infección por DENV produce un aumento significativo de las moléculas anti-inflamatorias (sTNF-RI, sTNF-RII y IL1RLI/sST2) y al estratificar a los pacientes por cuadro clínico solo se observaron en las formas más graves (DCSA y DG) y no se alteraron en la infección por los serotipos DENV-1 y DENV-3.
- La infección por DENV produce un aumento significativo del marcador de apoptosis sTRAIL y su patrón de alteración se relaciona con la forma clínica de la enfermedad siendo mayor en las menos graves (14).

## **2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO**

### **2.2.1. ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA (PDW)**

#### **2.2.1.1 PLAQUETAS O TROMBOCITOS**

Los trombocitos (plaquetas) forman parte importante del sistema hemostático. Consisten en fragmentos citoplasmáticos a-nucleados, ovales o discoideas, de 1-3  $\mu\text{m}$  de diámetro, con una estructura organizada, que se forma por estrangulación a partir de prolongaciones celulares de los megacariocitos de la médula ósea. Un tercio de los trombocitos (plaquetas) se almacenan en el bazo, mientras que los dos tercios restantes circulan en la sangre, donde su vida media alcanza los 7-10 días. Son degradados por los macrófagos, sobre todo en el bazo. En condiciones normales en un  $\text{mm}^3$  de sangre hay 150.000- 450.000 trombocitos. En las mujeres la cantidad disminuye antes del comienzo de la menstruación (15).

### **2.2.1.2 ÍNDICES PLAQUETARIOS.**

Los índices plaquetarios son parámetros determinados por los analizadores hematológicos automatizados que sirven para obtener información cuantitativa sobre las plaquetas. Los índices plaquetarios son:

**PLAQUETOCRITO (PTC o PCT).** Valores normales oscilan entre el 0.12 y el 0.36 %. Hace referencia al porcentaje que ocupa las plaquetas en un volumen de sangre (16).

**VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO (VPM o MPV).** Los valores normales se hallan entre 8 y 12fL. El VPM es inversamente proporcional a la cuenta de plaquetas (17). Un volumen menor indica micro-trombocitos y uno mayor aparece en presencia de macro-trombocitos (16). El VPM nos refleja el tamaño promedio de las plaquetas. Si existe un elevado número de plaquetas grandes (VPM elevado) en una persona con un número total de plaquetas disminuido, puede ser que la médula ósea esté produciendo plaquetas y liberándolas a la circulación rápidamente. Un VPM bajo en personas con un número disminuido de plaquetas puede reflejar un trastorno de producción de las mismas en la médula ósea (18).

**ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA (PDW).**- Este parámetro puede ser usado para determinar el recuento de plaquetas así como para medir el volumen medio de la plaqueta y la anisocitosis plaquetaria (19). Un valor más elevado indica plaquetas de distintos tamaños (anisocitosis plaquetaria) (16).

PDW indica el grado de uniformidad en el tamaño de las plaquetas. Estos datos pueden proporcionar información adicional al profesional de salud, acerca de la causa de un número aumentado o disminuido de plaquetas. Cuantos más jóvenes son las plaquetas, más pronto se habrán liberado desde la médula ósea y mayor suele ser su tamaño. Las plaquetas pequeñas suelen ser más viejas y ya llevan unos días en la circulación. Si la PDW es normal las plaquetas son homogéneas en cuanto a tamaño, mientras que una

PDW elevada indica que el tamaño de las plaquetas es muy variable, indicio de que puede existir un trastorno plaquetario conocido como anisocitosis plaquetario (18).

### **2.2.1.3 DESARROLLO DE LAS CÉLULAS PRECURSORAS DE LAS PLAQUETAS.**

Las plaquetas conocidas también como trombocitos, son fragmentos citoplasmáticos irregulares y carentes de núcleo de 2-3  $\mu\text{m}$  de diámetro, provenientes de una célula conocida como megacariocito (20).

Los megacariocitos son células de gran tamaño (80 a 150  $\mu\text{m}$  de diámetro) que se encuentran en mayor medida en la médula ósea y en la menor cantidad en el bazo y los pulmones. De igual forma que los eritrocitos y los leucocitos. Los megacariocitos se desarrollan a partir de una célula madre (Stem-Cell) pluripotencial (PSC) bajo la influencia de factores estimuladores de colonias (CSF) producidas por macrófagos, fibroblastos, linfocitos T y células endoteliales estimuladas. La diferenciación de las células madres en megacarioblastos productores de plaquetas estaría influenciada por las interleucinas 3, 6 y 11 (IL-3, IL-6, IL-11) y el CSF megacariocito (Meg-CSF) y el CSF granulocito (G-CSF) estimulan de manera sinérgica la producción de células progenitoras. Las proteínas de fusión como la mielopoyetina (IL-3 y G-CSF) también están involucradas en el proceso de maduración (21).

Se considera que las células de la médula ósea generan Meg-CSF en respuesta a la masa megacariocítica. Con la reducción del número de megacariocitos, la cantidad de Meg-CSF aumenta. La trombopoyetina se genera sobre todo en el riñón y en menor medida en el hígado y en el bazo, en respuesta a la demanda de plaquetas. De manera específica, se une al receptor de trombopoyetina, C-mpl, y estimula el crecimiento de megacariocitos y la producción de plaquetas. Además, estimula la liberación de plaquetas. Debido al intenso trabajo paralelo de la síntesis y la función de la trombopoyetina, hay varios sinónimos para ella: ligando C-mpl, factor de desarrollo y crecimiento del megacariocito (MGDF) y megapoyetina. Única entre las poyetinas, presenta 80 – 90 kD en comparación con el tamaño de 15 a 20 kD de la G-CSF y la eritropoyetina. Tiene los dominios distintos el primero se une en forma activa al

receptor C-mpl: el segundo estabiliza la molécula y le confiere una vida media prolongada (21)

## **FUNCIÓN DEL BAZO.**

A diferencia de su actividad en comparación de los eritrocitos o leucocitos, el bazo cumple un papel activo en la regulación de la cantidad de plaquetas. Alrededor del 30 % de las plaquetas de sangre periférica se secuestra en el bazo en cualquier momento. La depleción repentina de plaquetas debido al consumo en la coagulación o la destrucción inmune y no inmune, vacía con rapidez el depósito esplénico. En respuesta, la trombopoyetina produce la maduración de los megacariocitos para producir una respuesta medular igual a la pérdida de plaquetas. Debido a que la acción de la trombopoyetina es similar a la de la eritropoyetina, cualquier incremento en la trombopoyetina acelera la maduración de los megacariocitos. Esta maduración acelerada genera menor producción de plaquetas por célula. Si el consumo o la destrucción de plaquetas persisten, el recuento de plaquetas disminuirá a un nivel incapaz de mantener la integridad vascular y hemostática normal. Lo que produce un cuadro denominado trombocitopenia aguda (Gráfico N°1) (21).

### **2.2.1.4 MADURACIÓN DE LA PLAQUETA.**

La producción de plaquetas o trombocitos presenta otras características que son únicas de las células hematopoyéticas. Los precursores del eritrocito y el granulocitos general se dividen cuatro veces durante su maduración, y producen 16 células maduras a partir de cada célula troncal diferenciada. Los megacariocitos no presentan división celular completa. Un proceso denominado endocitosis o endo-reduplicación, en la que falta la telofase normal, crea una célula con un núcleo multilobulado. Cada lóbulo del núcleo es diploide (2N), con un complemento completo de 23 pares de cromosomas capaces de realizar la transcripción.

Los megacariocitos son poliploides (poseen más de 2 pares de cromosomas completos). En las divisiones endomitóticas del núcleo, a mayor ploidia, más grande

será el volumen del citoplasma. Los megacariocitos en general presentan 8N a 16N o 8 a 16 pares de cromosomas. Algunos megacariocitos desarrollan 16 lóbulos (32N), mientras otros solo alcanzan 2 lóbulos. Se han observado megacariocitos con 64 lóbulos (124N) en situaciones patológicas, pero son excepcionales. Cuando la tasa de producción de plaquetas se encuentra en estado de equilibrio, el megacariocito medio, de 8N o 16N, produce alrededor de 2000 a 4000 plaquetas (21).

### **MEGACARIOBLASTO.**

Megacarioblasto (MK1) es la primera célula de maduración en la secuencia del desarrollo de las plaquetas. Poseen un diámetro de 10-15  $\mu\text{m}$  con una proporción elevada entre núcleo y citoplasma. Poseen un solo núcleo con dos a seis nucléolos. El citoplasma es escaso y azul y no contiene gránulos. Se parecen a linfocitos o a otros blastos de la médula ósea y por ende no pueden identificarse con precisión solo sobre la base de su morfología. Durante este estado pueden sufrir división nuclear y aumentar el volumen del citoplasma y alcanzar un diámetro hasta 50  $\mu\text{m}$ .

En ocasiones los megacarioblastos ingresan en la circulación y viajan a lugares extramedulares, donde pueden continuar su maduración. En pacientes con leucemia mielocítica crónica y otras patologías mieloproliferativas pueden observarse micromegacariocitos o partes de megacariocito con “brote” citoplasmático característico en sangre periférica (21).

### **PROMEGACARIOCITO**

Una vez que el megacarioblasto se madura, se convierte en un promegacariocito (MK2), que crece y alcanza un diámetro de 80  $\mu\text{m}$ . Tres tipos de gránulos formados en el aparato de Golgi, denominados denso, alfa y lisosómico, están dispersos en todo el citoplasma (21). Es una célula fácilmente identificable por su gran tamaño y por su aspecto característico de su citoplasma, que posee bordes irregulares y emite numerosas prolongaciones (22).

## **MEGACARIOCITO BASÓFILO.**

Los distintos patrones de granulación y las divisiones finales del núcleo se producen en el tercer ciclo de replicación, denominado megacariocito basófilo (MK3). Las líneas citoplasmáticas de demarcación comienzan a hacerse notorias y delinean fragmentos citoplasmáticos individuales que luego se liberan como plaquetas. Cada área demarcada contiene una membrana, un cito-esqueleto, un sistema de microtubulos, canales y una porción de gránulos citoplasmáticos.

Además cada área posee un depósito de glucógeno que contribuye con el sostén de la plaqueta durante 9 a 11 días. Luego, el fragmento citoplasmático desarrolla una membrana con distintos tipos de receptores de glucoproteínas que permiten la activación, la adherencia, la agregación y el entrecruzamiento (21).

## **MEGACARIOCITOS.**

En la etapa final de maduración, el megacariocito maduro (MK4) libera segmentos citoplasmáticos a través de fenestraciones sinusoides medulares en un proceso denominado brote o desprendimiento de plaquetas. Cuando todas las plaquetas han sido liberados hacia la circulación sanguínea. Los núcleos desnudos restantes son fagocitados por los histiocitos medulares. Debido a que miles de plaquetas se desprenden de cada megacariocito maduro, se requieren menos células progenitoras en comparación con otros precursores celulares.

Debido a su tamaño, los megacariocitos pueden detectarse con rapidez en una extensión medular coloreada con tinción Wright, utilizando un objetivo de 4x o 10x. La hiperplasia megacariocítica indica una respuesta normal al aumento de la demanda o una proliferación autónoma, como lo observada en patologías mieloproliferativas. El agrupamiento de megacariocitos se observarse en patologías mieloproliferativas (21).

### **2.2.1.5 MORFOLOGÍA DE LAS PLAQUETAS.**

Las plaquetas o trombocitos son fragmentos del citoplasma de los megacariocitos con las siguientes características morfológicas.

- Forma variable, aunque suele ser discoidea.
- Tamaño muy pequeño (1-4  $\mu\text{m}$  de diámetro). Es la célula de menor tamaño de la sangre.
- Carece de núcleo. Pero tiene el resto de orgánulos celulares.
- Su citoplasma se tiñe de color azul pálido y contiene un número variable de pequeños gránulos de color púrpura.
- Es frecuente la formación de prolongaciones del citoplasma (seudópodos), que facilitan la adhesión entre plaquetas formando agregación plaquetarios.
- Poseen en su membrana antígenos que son muy útiles para su estudio por citometría de flujo: CD 41 (GPIIb), CD16 (GP IIIa), CD 42a (GPIX) y CD 42b (GPIb) (16).

### **ESTRUCTURA INTERNA DE LAS PLAQUETAS**

La estructura de las plaquetas es un estudio complejo. Está representado por un sistema de microtúbulos, membranas, orgánulos y microfilamentos. Cada placa se compone de varias capas: la zona periférica, los orgánulos intracelulares de sol-gel. Cada uno de ellos tiene su función y propósito (Gráfico N° 2) (23).

### **ZONA PERIFÉRICA O PARED CELULAR.**

Es un componente de los trombocitos que está en contacto directo con el plasma que lo rodea. Es la estructura con la que se adhieren las plaquetas para formar agregados e interviene en la recepción de estímulos que ponen en marcha la actividad de las plaquetas (16).

## **MEMBRANA CELULAR**

Su función principal es mantener la integridad celular de los trombocitos. Está formada por proteínas, fosfolípidos y glucoproteínas.

Uno de los fosfolípidos interviene en la activación de la coagulación y es conocido como factor 3 plaquetario (f3p) o tromboplastina plaquetaria.

## **ÁREA SUBMENBRANOSA**

Es la parte más interna de la zona periférica. Ayuda a mantener la forma discoidal de los trombocitos y participa en la formación y estabilización de los pseudópodos de los trombocitos.

## **ZONA DEL SOL-GEL O HIALOPLASMA**

El hialoplasma es la zona periférica del citoplasma de las plaquetas que corresponde al área de la misma que, observada con el microscopio, presenta una estructura transparente. Debido a la plasticidad del hialoplasma y a la rapidez con la que puede formar pseudópodos se cree que tiene una estructura de sol-gel.

En su interior hay dos tipos de elementos fibrosos (haz marginal de microtubulos y microfilamentos) que, junto con los finos filamentos del área submenbranosa, constituyen el sistema contráctil de los trombocitos.

## **HAZ MARGINAL DE MICROTÚBULOS**

Consiste en un anillo de microtubulos que se sitúa debajo de la pared celular y que rodea la circunferencia mayor de los trombocitos. se comporta como una especie de cito esqueleto que mantiene la forma discoidea de las plaquetas. Esta forma discoidea desaparece cuando se activan las plaquetas (16) (23).

## **MICROFILAMENTOS**

Se ubican paralelamente al haz marginal de los microtúbulos. Están formados, esencialmente, por proteínas contráctiles como la actina, la miosina, la trombostenina plaquetaria, la troponina y la tropomiosina.



Actúan en los cambios de la forma de las plaquetas y en la secreción de sustancias por parte de las mismas.

### **ZONA DE ORGANELAS.**

Contiene gránulos de glucógeno, mitocondria,  $\alpha$ -gránulos, cuerpos densos. Esta llamada de modo zona de los orgánulos. Cuerpos densos contienen ATP, ADP, serotonina, calcio, la adrenalina y la noradrenalina. La estructura y función de estas células proporcionan adhesión y curación de heridas. Por lo tanto, ADP produce en la unión de las plaquetas a la pared vascular, también es responsable de asegurar que estos registros de la sangre continuaron unirse a los que ya están atascados. El calcio regula la intensidad de la adherencia. La serotonina produce gránulos de liberación de plaquetas (se proporciona un lugar para romper los vasos estrechamiento de la luz). Gránulos alfa en los orgánulos de la zona ayudan a la formación de agregados de plaquetas. Son responsables de la estimulación del crecimiento del músculo liso, la restauración de las paredes de los vasos sanguíneos (23).

Son los gránulos que se encuentran en las plaquetas y se incluyen los descritos a continuación.

**Mitocondrias.-** son escasas. Contribuyen al depósito plaquetario de ATP y calcio.

**Lisosomas.-** contienen enzimas hidrolíticas que intervienen en a lisis celular (16).

### **2.2.1.6 ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DE LAS PLAQUETAS.**

Las alteraciones morfológicas son modificaciones en la forma y tamaño de los trombocitos.

**MEGATROMBOCITOS.-** Son plaquetas inmaduras de gran tamaño, sin embargo no es valorable si los megatrombocitos representan menos de 3% de toda la población plaquetaria. Las plaquetas se consideran grandes cuando superan los 4  $\mu\text{m}$  de diámetro, y gigantes cuando igualan o superan el tamaño de un eritrocito normal ( $>7.5 \mu\text{m}$ ).

La media del volumen plaquetario (VPM), medida con un sistema automático, aumenta cuando hay muchas plaquetas inmaduras presente (VPM  $> 11\text{fl}$ ).

La megatrombocitos aparece en personas que padecen determinados procesos patológicos, como la ausencia del bazo; causas congénitas (síndrome de Bernard-Soulier); o causas adquiridas, como en purpura trombótica trombocitopénica idiopática, en mielodisplasia, en síndromes mieloproliferativos y en coagulación intravascular diseminada.

**MICROTROMBOCITOSIS.-** consiste en la observación de las plaquetas pequeñas. Los micro-plaquetas son trombocitos envejecidos.

**ANISOCITOSIS TROMBOCITARIA.-** Es la presencia de plaquetas de distintos tamaños. Es muy frecuente e inespecífica. El índice PDW será mayor de 65%.

**HIPOGRANULACION TROMBOCITARIA.-** Es aparición de plaquetas con un citoplasma grisáceo y pobre en gránulos. Se encuentran en la purpura trombocitopénica idiopática y en la trombocitemia esencial (16).

#### **2.2.1.7 ALTERACIONES EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA.**

El recuento de plaquetas en sangre periférica es un dato importante dentro del hemograma. Las alteraciones en la concentración aportan información sobre distintas patologías que puede sufrir el paciente o sobre problemas en la coagulación, que conllevan modificaciones en la hemostasia (16).

Todas las enfermedades se asocian con cambios en su concentración en el sistema circulatorio. La reducción de su número se llama trombocitopenia. Si se aumenta la concentración, se hace referencia a la trombocitosis. En violación de la actividad de estas células se diagnostican trombocitosis (23).

#### **TROMBOCITOPENIA, TROMBOCITOPENIA O PLAQUETOPENIA.**

Consiste en la disminución de plaquetas en sangre por debajo de 150,000c/μL, aunque no se suelen producir hemorragias si los valores son superiores a 20.000c/μL. Las trombocitopenias pueden tener su origen a nivel central o a nivel periférico y son más frecuentes las adquiridas de las hereditarias.

En las trombocitopenias centrales, el origen está en la medula ósea debido a una baja producción de plaquetas, aunque su vida media en sangre periférica (7-10 días) es normal. Puede aparecer una consecuencia de una disminución de la trombopoyesis o por una trombopoyesis ineficaz (16).

**TROMBOCITOSIS.** La trombocitosis se define como un aumento plaquetario superior a 450.000c/μL (24). Y puede ocasionarse por diversos motivos:

**ALTERACIONES PRIMARIAS.-** La causa de esta alteración está ligada a un aumento en la producción de las plaquetas, como sucede en:

- **TROMBOCITOSIS ESENCIAL:** Alteración clonal mieloproliferativa, donde la concentración de plaquetas esta aumentada y tienen alterada su función.
- **OTROS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS:**

**Alteraciones Secundarias:** En las trombocitosis secundarias no hay clonalidad, las plaquetas en forma y tamaño (16).

### **2.2.1.8 TÉCNICAS Y MÉTODOS UTILIZADOS PARA EL CONTAJE DE PLAQUETAS.**

El recuento de plaquetas puede hacerse de manera directa y de manera indirecta. El método directo, a su vez, requiere de un contador hematológico automatizado que sea capaz de hacer el recuento de las diferentes células sanguíneas (leucocitos, eritrocitos y plaquetas), o en su defecto, podrá hacerse mediante el método manual, en el que se empleará la cámara de Neubauer y la pipeta de Thoma (25).

#### **2.2.1.8.1 CONTAJE MANUAL POR MÉTODO REES – ECKER PROCEDIMIENTO**

El conteo de plaquetas se realiza en sangre anticoagulada con EDTA y diluida con oxalato de amonio al 1% mediante el uso de la pipeta para dilución de hematíes y el hemocitómetro (26)

## **RECURSOS**

- Sangre anticoagulada con EDTA
- Solución de oxalato de amonio al 1% y/ o Rees-Ecker
- Pipeta para dilución de hematíes
- Cámara de recuento de Neubauer
- Laminilla de cuarzo
- Caja de Petri con papel de filtro humedecido
- Agitador de pipetas
- Microscopio

## **MÉTODO**

1. Mezcle cuidadosamente, por inversión por lo menos 10 veces, la sangre anticoagulada con el fin de obtener una muestra homogénea
2. Llene la pipeta con la muestra de sangre hasta la marca 1.0 exactamente
3. Eliminé el exceso de sangre de las paredes externas de la pipeta para no contaminar la solución diluyente
4. Aspire el líquido diluyente hasta la marca 101 exactamente
5. Sujeta la pipeta entre los dedos índice y pulgar, desprenda la boquilla y deje en reposo durante 3 minutos
6. Agite durante 10 minutos
7. Descarte hasta la mitad del bulbo con el fin de eliminar el líquido del capilar e inmediatamente llene la cámara
8. Llene la cámara de Neubauer en ambos lados y coloque en ambiente húmedo por 10 minutos. El ambiente húmedo se logra cubriendo la cámara con una Caja de Petri que llevará adherido un disco de papel de filtro humedecido
9. Coloque la cámara en el microscopio. Enfoque con objetivo de 40X y observe el llenado de la cámara. No debe haber agregados plaquetarios. Cuidadosamente enfoque el cuadrado central
10. Disminuya la intensidad de la luz. Así le será más fácil distinguir y contar las plaquetas
11. Las plaquetas se reconocen como estructuras pequeñas, opacas, redondas o alargadas, medianamente refráctales, y a veces con prolongaciones

12. El número está determinado por el conteo de los 25 cuadrados en que se subdivide el cuadrado central, descartando las plaquetas que tocan las líneas derecha e inferior (26) (27).

Cálculo

Para calcular el número de plaquetas por mm<sup>3</sup> de sangre, se aplica la siguiente formula:

$$PLT/\mu L = P \times V \times D$$

$$PLT/ \mu L = P \times 1000$$

$$PLT/\mu L = \text{número de plaquetas contadas por mm}^3 \text{ de sangre.}$$

P = número de plaquetas en un cuadrado grande

V = correlación de volumen (10)

D = correlación de dilución (100) (27).

#### **2.2.1.8.2      CONTAJE DE PLAQUETAS MEDIANTE COLORACIÓN WRIGHT**

Los extendidos hechos directamente con sangre sin anticoagulante se colorean Wright para observar su apariencia tintorial, su morfología y su número (28).

#### **RECURSOS**

- Sangre sin anticoagulante
- Portaobjetos o cubreobjetos
- Colorante de Wright
- Microscopio
- Aceite de inmersión

## **MÉTODO.**

Realice por lo menos cuatro extendidos en cubreobjetos o en portaobjetos, según lo prefiera. Coloree con Wright

Observar el frotis sanguíneo con el objetivo de inmersión del microscopio.

Elegir, para su examen, una zona de la preparación sanguínea en la que las células no están superpuestas y en la que se observa la morfología de las mismas.

Contar el número de plaquetas presentes en 10 campos microscópicos.

Para cambiar de campo correctamente y evitar contar los mismos trombocitos, se fija la vista en un punto de uno de los bordes del campo microscópico que se está estudiando (por ejemplo, el borde derecho) y se desliza el portaobjetos hasta que ese punto está en el borde opuesto de un nuevo campo microscópico (en este caso, en el borde izquierdo).

Calcular la cifra media del número de plaquetas contadas en los 10 campos microscópicos.

## **LECTURA DE RESULTADOS**

Para cuantificar, de una forma aproximada, el número de trombocitos comprendidos en un 1  $\mu\text{L}$  de sangre, se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{PLT}/\mu\text{L} = \text{PLT}/\text{C} \times 20.000$$

$\text{PLT}/\mu\text{L}$  = Número de plaquetas por  $\mu\text{L}$

$\text{PLT}/\text{C}$  = Media del número de plaquetas contadas en varios campos microscópicos (en este caso, en 10).

### **2.2.1.8.3 INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS**

Cuando se observa una extensión sanguínea con el objetivo de inmersión, en condiciones normales, debe haber 1 plaqueta por cada 10-20 hematíes.

Esto equivale, aproximadamente, a la presencia, en una zona del frotis donde los eritrocitos no están superpuestos, de 5 a 25 trombocitos por campo (28) (26).

### **2.2.2. FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DE DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA**

La Fiebre del Dengue anteriormente conocida como Dengue Clásico presenta fiebre habitualmente más alta, y dolores musculares fuertes. Puede complicarse cuando cae la fiebre y se debe prestar atención a los signos de alarma, como el sangrado. La Chikungunya, además de una fiebre más alta, presenta un dolor en las articulaciones más intenso y afecta manos, pies, rodillas, espalda. Puede llegar a incapacitar (doblar) a las personas para caminar y realizar acciones tan sencillas en lo relacionado a movimiento óseo (29).

La Fiebre Del Dengue es una enfermedad vírica transmitida por mosquitos que se ha propagado rápidamente en todas las regiones del mundo en los últimos años. El virus de la Fiebre Del Dengue se transmite por mosquitos hembra principalmente de la especie *Aedes aegypti* y, en menor grado, de *A. albopictus*. Estos mosquitos también transmiten la fiebre Chikungunya, la fiebre amarilla y la infección por el virus de Zika. La enfermedad está muy extendida en los trópicos, con variaciones locales en el riesgo que dependen en gran medida de las precipitaciones, la temperatura y la urbanización rápida sin planificar (30).

#### **2.2.2.1 FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DE DENGUE HEMORRÁGICO**

Es una enfermedad emergente que más ha ampliado su zona geográfica de transmisión en las dos últimas décadas. También es una de las enfermedades febriles más frecuentes en patología importada, ya que su forma más frecuente, la fiebre del dengue, puede confundirse fácilmente con un cuadro pseudo-gripal (31) (29).

#### **2.2.2.1.1 DEFINICIÓN**

La Fiebre Del Dengue es una enfermedad viral, de carácter endémico-epidemiológico, transmitida por mosquitos del género *Aedes* (*Aedes aegypti*), que constituye hoy la arbovirosis más importante a nivel mundial en términos de morbilidad, mortalidad y afectación económica (32). Es una enfermedad febril aguda de inicio súbito, de etiología vírica, que sigue casi siempre evolución benigna caracterizada por cefalea, fiebre, postración, mialgias, linfadenopatía y una erupción cutánea que aparece simultáneamente con una segunda elevación de la temperatura tras un período a-febril (33).

#### **2.2.2.1.2 ETIOLOGÍA**

El complejo de Fiebre Del Dengue lo constituye cuatro serotipos virales serológicamente diferenciables (Dengue 1, 2, 3 y 4) que comparten analogías estructurales y patogénicas, por lo que cualquiera puede producir las formas graves de la enfermedad, aunque los serotipos 2 y 3 han estado asociados a la mayor cantidad de casos graves y fallecidos. Son virus constituidos por partículas esféricas de 40 a 50 nm de diámetro que constan de las proteínas estructurales de la envoltura (E), membrana (M) y cápside (C), así como un genoma de ácido ribonucleico (ARN). También tienen otras proteínas no estructurales (NS): NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5-3.

#### **2.2.2.1.3 LOS VIRUS DEL DENGUE Y LA RESPUESTA DEL HUÉSPED.**

La inmunidad que deja la infección por cada serotipo viral es duradera, probablemente de por vida y se expresa por la presencia de anticuerpos (Ac) neutralizantes hemotípicos. No existe inmunidad cruzada de serotipos, excepto durante las primeras



semanas o meses después de la infección. Cabe destacar, cuando una persona tiene Ac subneutralizantes contra uno de los virus del Dengue y es infectado por otro serotipo viral se produce una respuesta infrecuente, casi exclusiva de la infección por Dengue: una amplificación dependiente de anticuerpos (ADA) que se traduce en una elevada replicación viral y Dengue aumentó de la viremia, lo cual condiciona y favorece el desarrollo la forma grave de la enfermedad conocida como Fiebre del Dengue Hemorrágico (32).

#### **2.2.2.1.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA DEL DENGUE.**

En la actualidad los distintos serotipos del virus del Dengue, son endémicos en muchos países tropicales, se ha confirmado que el virus se transmite durante todo el año, las áreas geográficas más afectadas son el sudeste asiático. El subcontinente indio, el Pacífico y Latinoamérica (Gráfico N°3) (34).

#### **2.2.2.1.5 EPIDEMIOLOGÍA RESERVORIO**

Los virus son perpetuados en un ciclo que incluye al humano y a los mosquitos de género *Aedes aegypti*, en centros urbanos de clima tropical. Un ciclo mono-mosquito pudiera ser reservorio en el sudeste asiático y África occidental (33).

**AGENTE:** Es un arbovirus de la familia flaviviridae, el vector es el mosquito hembra *Aedes Aegypti* y presenta cuatro serotipos, cuando se produce la picadura el virus ingresa a la sangre humana después del 5to a 6to después de la picadura, la infección le confiere al sujeto una inmunidad de por vida contra este serotipo, la reinfección con un serotipo distinto puede producir una enfermedad grave (Fiebre Del Dengue Hemorrágico) (35) (33).

**RESERVORIO:** Los virus son perpetuados en un ciclo que abarca al ser humano y al mosquito *Aedes Aegypti*, el virus del Dengue persiste en la naturaleza debido al ciclo de transmisión hombre- Aedes- hombre, el huésped cuando está infectado y se encuentra en fase de viremia constituye el reservorio de la enfermedad para su propagación (35).

**TRANSMISIÓN:** La transmisión es indirecta, a través de los vectores, por la picadura del mosquito hembra infectado. Las hembras se infectan al alimentarse con sangre de una persona que tiene Dengue, cuyas proteínas requieren para el desarrollo de los huevos. El insecto está muy adaptado al ambiente urbano y pica durante el día o atardecer. No hay transmisión por contacto directo con una persona enferma, por secreciones ni por contacto con fuentes de agua o alimentos (35).

Para que exista la transmisión de este virus tiene que estar presente: el virus, el vector y el huésped susceptible. Un mosquito vector del dengue puede quedar infectado cuando se alimenta de un huésped durante la viremia. Después de un periodo de incubación de 10 a 12 días, el virus atraviesa el intestino medio del mosquito vector para infectar sus otros tejidos, incluyendo las glándulas salivales, si el mosquito hembra busca su alimento en la sangre de otras personas susceptibles y la pica después que sus glándulas se han infectado, le transmite el virus del Dengue mediante la inyección del fluido salival. Es la única vía de transmisión de la infección por Dengue.

**PUERTA DE ENTRADA:** Es la piel donde el mosquito infectado pica.

**PUERTA DE SALIDA:** Es la piel, se produce por inoculación de un mosquito sano, el ciclo comienza cuando el mosquito hembra ingiere sangre que contiene el virus del Dengue. Este se replica en el epitelio intestinal, ganglios, y glándulas salivales del mosquito.

**HUÉSPED SUSCEPTIBLE:** Es el hombre, pero la población de mayor riesgo es aquella que vive en las regiones tropicales y subtropicales, por las condiciones climáticas y geográficas que favorecen la supervivencia y replicación del vector, se distinguen varios factores, como la predisposición (algunas personas suelen atraer más a los mosquitos que otros) o también interfiere el estado inmunológico de la persona ante el Dengue (35).

### **2.2.2.1.6 FISIOPATOLOGÍA**

Tras un periodo de incubación de 4 - 10 días, la infección por cualquiera de los cuatro serotipos puede causar un amplio espectro de enfermedad, aunque la mayoría de las veces son asintomáticas o subclínicas. La infección primaria produce inmunidad protectora de por vida contra el serotipo infectante; de la misma forma, los individuos infectados son protegidos de enfermedades clínicas por un serotipo diferente dentro de los dos o tres meses de la infección primaria, pero no ofrecen inmunidad protectora a largo plazo (34).

Los factores de riesgo asociado con una gran severidad a esta enfermedad incluyen infecciones secundarias, edad, raza y tal vez enfermedades crónicas. Los niños en particular son menos capaces de compensar la fuga capilar y por consecuencia tiene mayor riesgo de presentar síndrome de choque por dengue (32).

El virus entra vía cutánea al ser inoculado por el mosquito mientras este se alimenta; durante la fase aguda de la enfermedad, el virus se encuentra en la sangre y su aclaramiento coincide con la defervescencia. La inmunidad celular y humoral se encarga de este aclaramiento, generando anticuerpos neutralizantes y la activación de linfocitos T CD4 Y CD8 (36).

La fuga plasmática, la hemoconcentración y la alteración de la homeostasis caracterizan a los casos severos. Los mecanismos que ocasionan enfermedad grave no están bien definidos, pero la respuesta inmune, los antecedentes genéticos y las características del hospedero pueden contribuir para un diagnóstico. Datos recientes sugieren que la activación del endotelio pudiera condicionar la fuga plasmática y se piensa que esta pudiera representar cambios funcionales más que destructivos en las células endoteliales. La activación de monocitos infectados y células T en el sistema del complemento y la producción de mediadores, monoquinas, citoquinas y receptores solubles pudieran estar involucrados en la disfunción endotelial (36).

Además la trombocitopenia puede estar asociada con alteraciones en la megacariocitopoyesis, por infección de las células hematopoyéticas y falla en el crecimiento de las células progenitoras, resultando en disfunción plaquetaria (activación y agregación), destrucción incrementada o consumo. La hemorragia puede

ser consecuencia de la trombocitopenia y asociarse con disfunción plaquetaria y coagulación intravascular diseminada (36) (33).

#### **2.2.2.1.7 FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE DENGUE.**

El mecanismo fisiopatológico central para el desarrollo de Dengue es un aumento de la permeabilidad vascular inducida mediante la activación de la vía clásica del complemento y la liberación de citoquinas, como el interferón gamma y el factor de necrosis tumoral por parte de los linfocitos T activados.

Circulación de anticuerpos heterólogos contra el Dengue. Aunque el Dengue puede ocurrir en casos de infección primaria, en las personas adultas que son infectadas por primera vez, el Dengue suele limitarse a un síndrome febril. La infección previa por un serotipo heterólogo del virus del Dengue induce la formación de anticuerpos no neutralizantes para otros serotipos. Son estas personas con anticuerpos heterólogos las que están expuestas a padecer una fiebre de Dengue Hemorrágica, a través de un mecanismo de amplificación del crecimiento del virus en los monocitos/macrófagos. La fiebre de Dengue Hemorrágica también puede darse en lactantes con anticuerpos heterólogos de origen materno (33).

**Edad.** Todas las personas están en riesgo de tener esta infección, pero anteriormente se dice que la susceptibilidad desciende considerablemente pasados los 12 años.

**Sexo.** Las mujeres enferman con más frecuencia que los varones.

**Raza.** Los de raza blanca se afectan con más frecuencia que los de raza negra.

**Estado de nutrición.** La malnutrición ejerce un papel importante para contraer esta enfermedad.

**Secuencia de la infección.** Como podemos mencionar, el serotipo 1 seguido por el serotipo 2 es el más peligroso que el serotipo 4 seguido del serotipo 2.

**Serotipo infectante.** Cabe destacar que los cuatro serotipos pueden causar FDH, el serotipo 2 es el más peligroso que los demás. El orden descendente de frecuencia sería serotipos 2, 3,4 y 1 (33).

#### **2.2.2.1.8 MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Luego de un periodo de incubación de cinco a ocho días, inicia el cuadro clínico en forma brusca, con dolores musculares generalizados, cefaleas, dolor retro-orbitario, congestión conjuntival, edema de párpados, dolor lumbosacro, fiebre intensa de 40 o más grados centígrados. La fiebre desaparece después de tres a seis días y posteriormente reaparece con menos intensidad. Al inicio de la enfermedad un exantema macular puntiforme localizado en rodillas y codos, desapareciendo en poco tiempo, pero más tarde aparecen lesiones cutáneas de aspecto escarlatiforme en el tronco. Esto surge entre el tercer y quinto día de la enfermedad (37).

El exantema se extiende al resto del cuerpo incluido la cara. Además estos datos, aparecen adenopatías generalizadas, postración, anorexia y náusea, pulso lento, mialgias, artralgias, dolor de huesos, tos, dolor de garganta, rinitis, fenómenos de hiperestesia en diversas zonas de la piel, cambios en la sensación del gusto y algunas petequias y equimosis. Se pueden presentar miocarditis y manifestaciones neurológicas, y la biometría hemática presenta evidente leucopenia. La forma más grave es la fiebre del Dengue Hemorrágico.

Se genera fenómenos hemorrágicos a diferentes niveles, con la aparición de petequias, equimosis, epistaxis, hematemesis, melenas, shock y muerte. Según la severidad del cuadro clínico, hay una clasificación en cuatro grados, los cuales mencionamos a continuación:

**Grado I:** Fiebre, síntomas constitucionales y prueba del torniquete positivo.

**Grado II:** Todos los signos y síntomas anterior más hemorragias de piel, boca y melena.

**Grado III:** Estado de agitación e insuficiencia circulatoria.

**Grado IV:** shock o síndrome de shock por dengue.

El diagnóstico diferencial incluye rubeola, sarampión, malaria, tifoidea, leptospirosis y fiebres hemorrágicas (37).

#### **2.2.2.1.9 CLASIFICACIÓN DEL DENGUE**

De acuerdo a la Organización Mundial de la salud y el CIE 10, han reconocido y recomendado la clasificación del Dengue en: Fiebre del Dengue (FD), Fiebre del Dengue Hemorrágica (FHD) (32).

#### **FIEBRE DEL DENGUE.**

La Fiebre del Dengue es el más frecuente, en la mayoría de los casos. Este tipo de Dengue se caracteriza por un comienzo súbito de un cuadro febril agudo, lo cual es más de 38° C, de duración limitada de 2 a 7 días (31). Hay un intenso malestar general acompañado de erupción cutánea. A lo largo de toda la enfermedad se presentan dos o más crisis, que pueden presentar los siguientes signos o síntomas:

- Dolor de cabeza de predominio frontal
- Dolor detrás de las órbitas de los ojos, al moverlos.
- Dolor muscular
- Dolor articular, que se acentúa con el movimiento.
- Náuseas, vómito
- Erupción en la piel, de tipo sarampión en el pecho y miembros inferiores.
- Molestia a la luz
- Enrojecimiento de la faringe
- Conjuntivitis
- Dolor abdominal leve
- Diarrea
- Alteraciones del gusto
- Prurito generalizado
- Insomnio

- Terror, depresión
- Bradicardia relativa
- Adenopatías
- Fiebre Alta
- Pérdida de apetito
- Hinchazón de manos y pies
- Catarro
- Escalofríos
- Agitación
- Inflamación de ganglios linfáticos cervicales.

La fiebre aumenta rápidamente hasta 40°C, después de 48-96 horas se produce una defervescencia rápida con sudoraciones profusas. Esta fase afebril de la enfermedad se acompaña de sensación de bienestar, pero solo dura 24 horas y va seguida por la reaparición de la hipertermia. Al mismo tiempo aparece un exantema característico, de tipo morbiliforme, primero localizado en las extremidades, luego generalizado. Con frecuencia se produce el enrojecimiento de las palmas de las manos y de las plantas de los pies (31) (32).

La mortalidad es nula en los casos de la Fiebre del Dengue. La convalecencia a menudo es prolongada, durando varias semanas, y acompañada de astenia. Un ataque produce inmunidad durante un año o más, en niños menores de 5 años, es frecuente que sólo presenten fiebre que dura aproximadamente 5 días, durante los cuales está el período de contagio.

El tratamiento de la enfermedad es de alivio sintomático. El paciente mejora completamente luego de aproximadamente una semana o dos. Esta forma de Dengue suele ser benigna y no produce muertes y puede afectar tanto a niños como adultos (31).

### **FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO**

Es la forma más grave causada por el virus del dengue, tanto así que puede llevar a la muerte del paciente, afecta principalmente a pacientes en la edad infantil. Además es poco frecuente (5% del total de casos clínicos). El principal factor de riesgo para la

aparición de este tipo de Dengue es haber tenido una infección previa por otro serotipo de Dengue. Aunque también influye el lugar de incubación en el huésped y su susceptibilidad (31).

La Fiebre del Dengue Hemorrágico incluye los síntomas de la Fiebre del Dengue, a los que se agregan manifestaciones hemorrágicas, con aumento de permeabilidad vascular y anomalías en el mecanismo de coagulación, que muchas veces pueden comprometer a órganos específicos vitales. Por otra parte no sólo hay síntomas de fiebre y postración, sino también aparecen petequias, hemorragias nasales o intestinales, y se acompaña frecuentemente de pulmonía (38).

#### **2.2.2.1.10 DIAGNÓSTICO DE DENGUE**

##### **LABORATORIO GENERAL:**

Es de gran utilidad clínica realizar un hemograma con recuento de plaquetas, pruebas hepáticas y de coagulación. Los pacientes con Dengue no complicado pueden presentar leucopenia, trombocitopenia y leve elevación de las transaminasas. En los casos de Fiebre de Dengue Hemorrágico, el hemograma muestra hemoconcentración (elevación del hematocrito > 20% del basal) dado por el aumento de la permeabilidad capilar y trombocitopenia < 100.000 plaquetas. Otros exámenes pueden revelar compromiso de otros órganos (39).

##### **LABORATORIO ESPECÍFICO:**

El diagnóstico de infección por virus Dengue incluyen el aislamiento viral, determinación de RNA o antígeno de virus Dengue en sangre, detección de anticuerpos específico de Dengue IgM e IgG. Para el diagnóstico clínico los métodos más utilizados son la detección de anticuerpos IgM e IgG y la detección de RNA viral. La sensibilidad va a depender de la etapa de la infección.

Antes del quinto día de evolución de los síntomas, durante la fase febril, la infección puede ser diagnosticada por aquellos métodos que determinan la presencia del virus circulante como aislamiento viral y la detección de RNA y antígenos virales en sangre.



A partir del sexto día en adelante, el virus Dengue y los antígenos desaparecen de la circulación sanguínea, coincidente con la aparición de anticuerpos específicos. En esta fase el diagnóstico se basa en la determinación de anticuerpos IgM e IgG. La detección de anticuerpos es la técnica diagnóstica más ampliamente disponible actualmente (39).

**AISLAMIENTO VIRAL:** El virus puede ser cultivado en células o de mosquito C6/36, en muestra de sangre obtenida en los primeros cinco días de evolución, y también pueden utilizarse muestras de tejidos. Esta técnica se utiliza con fines de investigación ya que requiere de laboratorios especializados y personal con experiencia y el resultado no está disponible antes de siete días. Esta técnica permite la identificación del serotipo de virus dengue.

**DETECCIÓN DE RNA VIRAL Y TIPIFICACIÓN:** Esto se realiza mediante la técnica de RT-PCR en muestra obtenida los primeros cinco días de enfermedad de sangre o de tejidos. Permite la identificación de serotipo de virus dengue. Esta técnica es de utilidad para el diagnóstico clínico precoz de Dengue pero requiere de laboratorios especializados y personal con experiencia.

**DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE DENGUE:** En la actualidad se han desarrollado técnicas capaces de detectar la presencia de proteínas virales como las de membrana y envoltura y la NS1 (no estructural). Estas técnicas están disponibles comercialmente, pero su sensibilidad y especificidad están aún en evaluación. Son capaces de detectar antígenos virales tanto de infección primaria como secundaria y hasta el día 9 de evolución de la enfermedad pero no diferencian serotipos de virus Dengue (39).

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS:** La técnica más utilizada es ELISA, existiendo gran variedad de test comerciales con sensibilidad y especificidad variable. La detección de anticuerpos se realiza en muestras de suero. La detección de anticuerpos IgM e IgG permite diferenciar la infección primaria de la infección secundaria y no

diferencia los distintos serotipos de virus Dengue. Existe reacción cruzada con otros flavivirus.

**I. INFECCIÓN PRIMARIA:** IgM es el primer anticuerpo en aparecer luego del quinto día de evolución alcanzando su máximo a las dos semanas de evolución con una duración de 2 a 3 meses. La IgG comienza a elevarse lentamente luego de la primera semana de síntomas con una duración de varios meses y en ocasiones de por vida.

**II. INFECCIÓN SECUNDARIA:** La IgG es detectada rápidamente y en títulos altos persistiendo por al menos 10 meses o de por vida. La IgM en estos casos es significativamente más baja que en la infección primaria pudiendo ser incluso indetectable (39).

#### **2.2.2.1.11 DATOS-CLAVE PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMOS CON DENGUE**

La carencia de una droga antiviral u otro medicamento específico puede ser sustituida exitosamente por la aplicación de un conjunto de conocimientos que permite la clasificación de los pacientes según sus síntomas y etapa de la enfermedad, así como el reconocimiento precoz de los signos de alarma que anuncian la inminencia del choque y permite al profesional "ir por delante" de las complicaciones y decidir las conductas terapéuticas más adecuada (32)

Todo paciente febril debe ser interrogado con pensamiento clínico y epidemiológico, y precisar la duración de los síntomas, a partir del primer día con fiebre; además, debe hacerse un examen físico, para diagnosticar otras causas de fiebre que también concurren durante las epidemias de Dengue. Son cuatro las preguntas que el profesional de salud debe hacerse frente a un paciente sospechoso de Dengue: 1) ¿tiene Dengue?, 2) ¿tiene sangramiento, alguna comorbilidad o signos de alarma?, 3) ¿está en choque?

Las respuestas a esas preguntas permiten clasificar al paciente en uno de cuatro grupos (A, B y C) y decidir conductas:

- a) Enviarlo a casa con orientaciones y tratamiento ambulatorio (grupo A).
- b) Hospitalización para una estrecha observación y tratamiento médico (grupo B)
- c) Tratamiento intensivo urgente (grupo C).

### **GRUPO A: PACIENTES QUE PUEDEN SER ENVIADOS A SU HOGAR**

Son los pacientes que pueden tolerar volúmenes adecuados de líquido por la boca, mantienen buena diuresis, no tienen signos de alarma, particularmente durante la defervescencia. A los pacientes ambulatorios se les debe ver todos los días en busca de signos de alarma hasta que se encuentren fuera del período crítico. Debe orientárseles guardar reposo en cama, ingerir líquidos en abundante cantidad (más de cinco vasos de tamaño promedio para adultos o lo correspondiente a niños) de leche, jugos de frutas. El agua sola no es suficiente para reponer las pérdidas de electrolitos asociadas a la sudoración, vómitos u otras pérdidas. Para aliviar los dolores del cuerpo y bajar la fiebre, puede indicarse paracetamol (nunca más de 4 g por día para los adultos y a la dosis de 10-15 mg x Kg de peso x día en niños), así como aplicar agua en la piel con esponjas hasta hacer descender la temperatura. No dar aspirina ni antiinflamatorios no esteroideos (32).

### **GRUPO B: PACIENTES QUE DEBEN SER INTERNADOS EN UN HOSPITAL PARA MEJOR OBSERVACIÓN Y TRATAMIENTO**

Son los pacientes con cualquiera de las siguientes manifestaciones:

#### **SIGNOS DE ALARMA**

Condiciones médicas coexistentes, condiciones que pueden hacer más complicado el Dengue o su manejo, tales como: estado de gestación, edades extremas de la vida (menores de un año y ancianos, obesidad, diabetes mellitus, enfermedades hemolíticas crónicas y cualquier enfermedad crónica. o pacientes que reciben tratamiento mantenido con anticoagulantes o corticoides, así como circunstancias sociales tales como vivir sólo, o vivir muy distante de la unidad de salud sin medio de transportación confiable.

En estos casos se debe iniciar reposición de líquidos por vía intravenosa (IV) utilizando soluciones cristaloides, como solución salina isotónica al 0.9%, u otra. Comenzar por 5-7 ml x Kg x hora y posteriormente mantener la dosis o disminuirla de acuerdo a la respuesta clínica del paciente. Si fuera posible, tomar una muestra de sangre para hematocrito antes de iniciar la reposición de líquidos por Bay IV y después repetir el hematocrito periódicamente. Administrar la cantidad mínima necesaria para mantener la adecuada perfusión y una diuresis adecuada (0.5 ml x kg x hora). Habitualmente se necesita continuar esta administración de líquidos por vía IV durante 48 horas. Si hay empeoramiento clínico o elevación del hematocrito, aumentar la dosis de cristaloides IV a 10 ml x kg de peso x hora hasta la estabilización del paciente o hasta su remisión a una unidad de Cuidados Intensivos (UCI) (32).

### **GRUPO C: PACIENTES QUE REQUIEREN TRATAMIENTO DE EMERGENCIA Y CUIDADOS INTENSIVOS PORQUE TIENEN DENGUE SEVERO**

Consiste en el tratamiento del choque mediante resucitación con aporte por vía IV de soluciones cristaloides a 10-20 ml x kg x hora en la primera hora y reevaluar la condición del paciente (signos vitales, tiempo de llenado capilar, hematocrito, diuresis) y decidir en dependencia de la situación reducir progresivamente la cantidad de líquidos, si es que el paciente evidencia mejoría, o repetir un segundo bolo de cristaloides si los signos vitales son aun inestables y si el hematocrito se ha elevado, lo cual sugiere que el choque persiste. La cantidad de solución cristaloides ahora transfundida puede ser de 20 ml x kg x hora. Si se obtiene mejoría en el estado del paciente, reducir la cantidad de líquidos progresivamente. Si el hematocrito desciende y el paciente mantiene el estado de choque, pensar en que se ha producido una hemorragia, casi siempre digestiva, e indicar transfusión de glóbulos rojos. Los pacientes con choque por Dengue deben ser monitoreadas frecuentemente hasta que el periodo de peligro haya pasado (32).

#### 2.2.2.1.12 PREVENCIÓN

Las medidas de prevención son para reducir el riesgo de infección en los individuos y reducir el riesgo de transmisión. Estas varían dependiendo si las personas viven o visitan áreas endémicas.

a) En zonas endémicas con presencia del vector y evidencia de transmisión de virus de Dengue las medidas son las siguientes:

- **Prevención de la picadura del Aedes:** uso de mosquiteros en ventanas, puertas y otros puntos de entrada a la vivienda, uso de mosquiteros en siestas diurnas y uso de repelente tópico diurno.
- **Control del vector:** Eliminar los sitios de reproducción del mosquito, incentivando hábitos y conductas en la comunidad que favorezcan la eliminación de reservorios de agua estancadas, mejoramiento de las condiciones de saneamiento básico y ordenamiento ambiental a nivel individual y comunitario.

b) En viajeros a zonas endémicas: uso de repelente tópico diurno que contenga DEET en concentraciones cercanas al 30%, uso de ropa adecuada, es decir, en lo posible, uso de mangas largas, pantalones largos y zapatos cerrados (39).

#### 2.2.2.2 CHIKUNGUNYA.

La fiebre Chikungunya es una enfermedad tropical producida por un arbovirus causante de una poliartritis aguda de varias semana a meses de duración (40). La fiebre Chikungunya es una enfermedad vírica transmitida al ser humano por mosquitos infectados. Además de fiebre y fuertes dolores articulares, produce otros síntomas, tales como dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas (41) (29).

Los dolores articulares suelen ser debilitantes y su duración puede variar. Algunos signos clínicos de esta enfermedad son iguales a los del Dengue, con el que se puede confundir en zonas donde este es frecuente. Como no tiene tratamiento curativo, el tratamiento se centra en el alivio de los síntomas.

Un factor de riesgo importante es la proximidad de las viviendas a lugares de cría de los mosquitos. La enfermedad se da en África, Asia y el subcontinente Indio. En los últimos decenios los vectores de la enfermedad se han propagado a Europa y las Américas. En 2007 se notificó por vez primera la transmisión de la enfermedad en Europa, en un brote localizado en el nordeste de Italia. Desde entonces se han registrado brotes en Francia y Croacia. Se describió por primera vez durante un brote ocurrido en el sur de Tanzania en 1952. Se trata de un virus ARN del género alfa-virus, familia Togaviridae. “Chikungunya” es una voz del idioma Kimakonde que significa “doblarse”, en alusión al aspecto encorvado de los pacientes debido a los dolores articulares (41).

#### **2.2.2.2.1 SIGNOS Y SÍNTOMAS**

Los síntomas comienzan generalmente de 3 a 7 días después de la picadura del mosquito. El síntoma más común es una aparición repentina de fiebre mayor a 38,5 grados, a menudo acompañada de dolor en las articulaciones (42).

Otros signos y síntomas frecuentes son: dolores musculares, dolores de cabeza, náuseas, cansancio y erupciones cutáneas. Los dolores articulares suelen ser muy debilitantes, pero generalmente desaparecen en pocos días. La mayoría de los pacientes se recuperan completamente, pero en algunos casos los dolores articulares pueden durar varios meses, o incluso años. Se han descrito casos ocasionales con complicaciones oculares, neurológicas y cardíacas, y también con molestias gastrointestinales (41) (4).

#### **2.2.2.2.2 TRANSMISIÓN**

La fiebre Chikungunya se ha detectado en más de 60 países de Asia, África, Europa y las Américas. El virus se transmite de una persona a otras por la picadura de mosquitos hembra infectados (41).

El virus Chikungunya suele transmitirse a través de un mosquito *Aedes aegypti*, comienza a asociarse de manera repetida a un nuevo vector, *Aedes albopictus*, el cual se ha diseminado en zonas tropicales (40), están dos especies que también pueden transmitir otros virus, entre ellos el del Dengue. Estos mosquitos suelen picar durante todo el periodo diurno, aunque su actividad puede ser máxima al principio de la mañana y al final de la tarde. Ambas especies pican al aire libre, pero *Aedes aegypti* también puede hacerlo en ambientes interiores. La enfermedad suele aparecer entre 4 y 8 días después de la picadura de un mosquito infectado, aunque el intervalo puede oscilar entre 2 y 12 días (41).

### **2.2.2.2.3 CHIKUNGUNYA Y SUS SISTEMAS.**

#### **INMUNOLÓGICO Y ÓSEO ARTICULAR.**

Las infecciones virales solo aparecen cuando estos microorganismos penetran las células vivas y cuando mediante la transferencia de sus componentes genéticos logran desarrollar las enfermedades; dependiendo de sus viriones, cantidad y velocidad de multiplicación; de la respuesta inmunológica del huésped, su edad y condiciones de salud; del medio ambiente; de la población o grupos sociales susceptibles, y de los factores que determinan su condición evolutiva de agudas, crónicas o latentes.

En el sistema inmunológico y óseo articular, el proceso se inicia con la simple entrada del virus Chikungunya al cuerpo humano, por el bloqueo simultaneo de los glóbulos blancos macrófagos responsables de su defensa, así como por la producción de sustancias facilitadoras de la inflamación y de dolor locales, especialmente articular que ocasiona el virus, entre ellas las llamadas prostaglandinas, citoquinas, interferones y factores de muerte tumoral.

La inflamación y el dolor articular son regulados en el Sistema Nervioso Central (SNC) a nivel de su eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal mediante la producción de la hormona pro inflamatoria (CRH) y de las células mastocitos con la liberación de diferentes histaminas y posteriormente por la auto regulación a través de estas mismas glándulas suprarrenales que liberan como respuesta antagonica el cortisol con efecto

antiinflamatorio, lográndose completar de esta manera el ciclo automático de la inflamación articular ocasionada por el Chikungunya (43).

### **NEUROLÓGICO- NEURAL.**

La Chikungunya se caracteriza entre los síntomas clínicos por producir un intenso dolor en las articulaciones y sus anexos, a causa de su inflamación y deterioro, el que es detectado por neuronas especializadas desprovistas de neuronas sensitivas primarias y que, a manera de receptores especiales, se denominan nociceptivos o detectores del dolor.

Estos receptores nociceptivos actúan como estructuras nerviosas libres se ubican en la periferia de las áreas articulares inflamadas o deterioradas por efecto de la Chikungunya, así como en su interior donde se ha reducido o eliminado el líquido sinovial, dañada de manera temporal o definitiva la membrana sinovial, maltratada la capsula articular e inflamados los ligamentos articulares, efectos que en conjunto modifican la actividad de la membrana celular permitiendo la transformación de la realidad física por las lesiones articulares en un mecanismo generador de impulsos eléctrico de forma automática para ser enviado por vía de la medula espinal hacia el SNC (43).

#### **2.2.2.2.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y COMPLICACIONES**

Luego de un periodo de uno a doce días que transcurre entre la picadura del mosquito infectado por el virus de la Chikungunya y la aparición de sus primeras manifestaciones clínicas, las personas responden de diferentes maneras, aunque algunas no la sufren en su condición de portadoras asintomáticas (3% al 28%) situación que facilita la propagación y sus formas aguda, subaguda y crónica (43).

Estas manifestaciones se inicia por la aparición súbita de fiebres elevadas hasta más de 39 grados, dolores articulares severos, malestar general, cansancio, dolores musculares (mialgias) y de cabeza (cefaleas), náuseas con o sin vómito, conjuntivitis



y la aparición de una erupción (rash) en el tronco y las extremidades similar al de sarampión, síntomas que en la fase aguda duran de 3 a 10 días.

Aunque no existen hallazgos de laboratorio propios de la Chikungunya, en los casos pueden encontrarse una leve reducción de glóbulos blancos (leucopenia) y plaquetas (trombocitopenia), así como la elevación de las enzimas hepáticas (AST-ALT). De la misma manera, existen pruebas especiales relacionadas con las complicaciones de la enfermedad, las cuales deben obedecer al juicio médico según su evolución clínica. A pesar de su tendencia a la cronicidad, y repeticiones de las inflamaciones y de los enrojecimientos, especialmente de las áreas articulares con lesiones previas, son raras las formas graves y las muertes por el virus del Chikungunya (43).

#### **2.2.2.2.5 DIAGNÓSTICO**

Para establecer el diagnóstico se pueden utilizar varios métodos. Las pruebas serológicas, como la inmunoadsorción enzimática (ELISA), pueden confirmar la presencia de anticuerpos IgM e IgG contra el virus Chikungunya. Las mayores concentraciones de IgM se registran entre 3 y 5 semanas después de la aparición de la enfermedad, y persisten unos 2 meses. Las muestras recogidas durante la primera semana tras la aparición de los síntomas deben analizarse con métodos serológicos y virológicos (RT-PCR).

El virus puede aislarse en la sangre en los primeros días de la infección. Existen diversos métodos de reacción en cadena de la polimerasa con retro transcriptasa (RCP-RT), pero su sensibilidad es variable. Algunos son idóneos para el diagnóstico clínico. Los productos de RCP-RT de las muestras clínicas también pueden utilizarse en la genotipificación del virus, permitiendo comparar muestras de virus de diferentes procedencias geográficas (41).

#### **2.2.2.2.6 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL**

El diagnóstico diferencial debe establecer con el dengue, paludismo, leptospirosis, algunas enfermedades virales por alfa virus, las artritis tradicionales o infecciosas, la fiebre reumática y la artritis reumatoide juvenil (43)

#### **2.2.2.2.7 TRATAMIENTO**

No existe ningún antivírico específico para tratar la fiebre Chikungunya. El tratamiento consiste principalmente en aliviar los síntomas, entre ellos el dolor articular, con antipiréticos, analgésicos óptimos y líquidos. No hay comercializada ninguna vacuna contra el virus Chikungunya (41).

### **2.3 HIPÓTESIS O SUPUESTOS**

**H1:** La determinación del ancho de distribución plaquetaria es un marcador oportuno y diferencial para Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya.

**H0:** La determinación del ancho de distribución plaquetaria no es un marcador oportuno y diferencial para Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya.

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1.NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN**

**INVESTIGACIÓN CORRELACIONAL:** Permite tener un grado de asociación entre la variable independiente (Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya) y la variable dependiente (Determinación de Ancho de Distribución Plaquetaria), basados en argumentos lógicos mediante análisis de laboratorio.

**INVESTIGACIÓN DESCRIPTIVA:** Al ser un problema interés social, mediante esta investigación detallaremos el objetivo y características del estudio permitiendo tener una medición cuantitativa de los resultados obtenidos en los pacientes en estudio, siendo comparado con todos los datos e información obtenida.

#### **3.2.SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO**

Por la relación existente entre las variables en el problema formulado, en ésta investigación predomina un enfoque cuantitativo con mayor énfasis en los análisis de los resultados obtenidos de laboratorio.

#### **DELIMITACIÓN ESPACIAL:**

La presente investigación se realizó en el Laboratorio Clínico “UMALAB” del Centro de Salud tipo C “Unidad Médica Asistencial” ubicada en la provincia de Orellana, Cantón Joya de los Sachas, en donde se procesó las muestras de los pacientes atendidos en dicho centro médico.

### **3.3.MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN**

**DE LABORATORIO.-** Porque en la presente investigación se realizaron exámenes de laboratorio para obtener resultados referenciales y diferenciales sobre Ancho de Distribución Plaquetaria en paciente con Fiebre de Dengue, Fiebre de Dengue Hemorrágico y Chikungunya.

**BIBLIOGRÁFICA Y DOCUMENTAL.-** Porque se apoyó en fuentes bibliográficas de libros, revistas, publicaciones, boletines informativos e investigaciones de diferentes autores con la finalidad y el propósito de conocer, ampliar y profundizar en el tema.

**DE CAMPO.-** Esta investigación nos permitió tener contacto directo con las personas que presentan un mayor problema de salud, siendo estos pacientes que presentan signos y síntomas relacionados con fiebre de Dengue y Chikungunya.

### **3.4.POBLACIÓN Y MUESTRA**

Al ser una investigación finita, se realizó con 115 pacientes con diagnóstico de Fiebre de Dengue, Fiebre de Dengue Hemorrágico y Chikungunya, los mismos que fueron atendidos en el Laboratorio de este Centro de Salud, sin discriminación de edad, sexo, religión y cultura.

#### **3.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes con signos y síntomas de Fiebre del Dengue.
- Pacientes con signos y síntomas de Chikungunya.
- Pacientes que presentan fiebre más de tres días.
- Pacientes con fiebre recurrente durante unos varios días o semanas.
- Pacientes que firmaron voluntariamente el consentimiento informado.

### **3.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Pacientes que presentan fiebre menor a 3 días
- Pacientes q fueron diagnosticadas con más de una enfermedad como puede ser Dengue, fiebre tifoidea o IVU.
- Pacientes con enfermedades catastróficas o hereditarias.
- Pacientes que no firmaron el consentimiento informado.

### **3.5.DISEÑO MUESTRAL**

En virtud del tamaño muestral, se trabajó con toda la población que asistió durante el periodo que se efectuó la investigación, la misma que está constituida de 115 pacientes que fueron atendidos en el Centro de Salud tipo C “Unidad Médica Asistencial”

### **3.6.OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

### 3.6.1 N°1. VARIABLE INDEPENDIENTE: FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORÍAS	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
FD, FDH son causados por el arbovirus del género Flavivirus, familia Flaviviridae y la Chikungunya por el Arbovirus, del género <i>Alphavirus</i> , familia Togaviridae, que son transmitida por el mismo vector el mosquito hembra infectado <i>Aedes aegypti</i> y <i>Aedes albopictus</i> , que cursa con fiebre, dolor de cabeza, cansancio y dolor en músculos y articulaciones	CLASIFICACION <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Fiebre de Dengue</li> <li>➤ Fiebre de Dengue Hemorrágico</li> <li>➤ Chikungunya</li> </ul>	Factores de riesgo: -Antecedentes -Exposición a mosquitos	¿Cuándo se considera paciente con Fiebre del Dengue?  ¿Cuándo se considera paciente con Fiebre del Dengue Hemorrágico?  ¿Cuándo se considera paciente con Chikungunya?	Observación	Informes de laboratorio  Diagnostico medico

Elaborado por: Quilligana, Carlos. 2016

**3.6.2 TABLA N° 2. VARIABLE DEPENDIENTE: DETERMINACIÓN DE ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA.**

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORÍAS	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Ancho de Distribución Plaquetaria, corresponde a la amplitud de la distribución de la población de plaquetas, se refiere a la anisocitosis plaquetaria que observamos en distintas condiciones como, mielodisplasia, mieloproliferación y otras condiciones donde las plaquetas aparecen con gran variabilidad en su tamaño	Plaquetas Valor referencial adultos 150.000 - 350.000 c/ ml Valores referenciales en niños 150.000 - 350.000 c/μL	Trombocitopenia: Leve (100,000 – 150,000c/ μL) Grave (<100,000c/ μL)	¿Cuáles son los puntos de corte del conteo de plaquetas para un diagnóstico oportuno de Dengue?  ¿Cuáles es el punto de corte del conteo de plaquetas para un diagnóstico oportuno de Chikungunya?	Observación	Informes de laboratorio  Cuaderno de apuntes

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos. 2016

### **3.7.DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.**

En la presente investigación para la recolección de información se procedió de la siguiente manera:

#### **3.7.1. PROTOCOLO BIBLIOGRÁFICO**

Se utilizaron distintas fuentes bibliográficas como son internet, libros, revistas científicas, entre otras, para recolectar una información adecuada para poder sustentar de una manera científica y contribuir a la sociedad un mejor conocimiento en lo referente al tema investigado.

#### **3.7.2. PROTOCOLO INSTITUCIONAL.**

Se procedió a verificar los recursos humanos y económicos factibles para proceder al estudio.

Se realizó los trámites pertinentes para la autorización de la presente investigación tanto en la Universidad Técnica de Ambato como en el Centro de Salud donde se realizó este proyecto.

Se procedió a recolectar datos y resultados de los pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico “UMALAB” del Centro de Salud tipo C “Unidad Médica Asistencial” con signos y síntomas relacionados con Fiebre de Dengue, Fiebre de Dengue Hemorrágico y Chikungunya.



### **3.7.3. PROTOCOLO DE TÉCNICAS, PROCEDIMIENTOS E INSTRUMENTOS.**

#### **TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA.**

En general el momento más adecuado para realizar la toma de muestra es entre las 7:00-9:30 de la mañana, (las determinaciones que necesiten extraerse en otra banda horaria deberán de especificarse por el laboratorio). Además se recomienda un ayuno previo de 8-10 horas y extraer la muestra antes de iniciar procedimientos diagnósticos o terapéuticos que puedan interferir. Se debe registrar la hora exacta de la toma de muestra y enviar ésta al laboratorio en el contenedor adecuado (44).

#### **EXTRACCIÓN SANGUÍNEA.**

Material necesario a utilizar:

- Jeringas de distintos volúmenes de acuerdo a la necesidad.
- Guantes desechables
- Algodón o gasas
- Tubos con anticoagulante EDTA (tapa lila)
- Tubos sin ningún tipo de anticoagulante (tapa roja)
- Alcohol antiséptico
- Torniquete
- Gradillas
- Curitas

#### **PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN SANGUÍNEA.**

- Preparar los elementos necesarios
- Identificar al paciente y explicarle el procedimiento que se va a realizar. Pedirle que siente o se recueste.
- Lavar las manos y colocarse los guantes.
- Ubicar el torniquete por encima del sitio que se va a punzar para que la vena sea más visible.

- Localizar la vena mediante inspección. Pedirle al paciente que abra y cierre su puño.
- Desinfectar el área que se va a punzar con el algodón y el alcohol.
- Punzar la vena en dirección contraria al flujo sanguíneo, en un ángulo de 45 grados.
- Afloje el torniquete para que la sangre fluya mejor en el tubo con anticoagulante.
- Remover la aguja del brazo con movimiento suave.
- Presione el algodón sobre el sitio de la punción aplicando una presión adecuada y no excesiva para evitar la formación de hematoma.
- Colocar un curita en el sitio que fue punzado.
- Etiquetar los tubos.
- Desechar el material usado.
- Desinfectar las manos.
- Registrar el procedimiento en los formatos designados.

## **DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS A LAS DIFERENTES ÁREAS DEL LABORATORIO.**

Una vez realizada la extracción, los diferentes especímenes deben ser organizados por códigos de procedencia para facilitar un reconocimiento rápido y efectivo durante el transporte y posterior análisis de estos. Esta buena identificación puede llevarse a cabo de diferentes formas: identificación manual, códigos de barras, etc. Después de asegurar que los especímenes están correctamente identificados, se centrifugan (cuando existan centrífugas en los puntos de extracción) y se envían en gradillas, de forma ordenada según códigos de barras y tipo de tubo y en posición vertical para evitar interferencias de diverso tipo. En toda determinación analítica es imprescindible remitir los especímenes desde los centros de extracción con la mayor rapidez posible y evitando cualquier tipo de interferencias o errores. Esto no siempre es posible, sobre todo si las extracciones son extra hospitalarias (44).

Se procede a distribuir los especímenes para su respectivo análisis en este caso el personal responsable envía el espécimen extraída en el tubo tapa lila (anticoagulante

EDTA) al área de hematología, y así ves el tubo tapa rojo sin (ningún aditivo) se envía al área de inmunología para sus análisis respectivos.

### **3.7.3.1. ÁREA DE HEMATOLOGÍA, PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.**

El recuento de plaquetas consiste en la determinación del número de trombocitos presentes en un volumen determinado de sangre (generalmente en 1mm<sup>3</sup>). Se puede realizarse el conteo en varios campos de un frotis sanguíneo observada microscópicamente, sin embargo se puede llevar a cabo el conteo mediante la técnica Rees-Ecker (cámara de Neubauer) o un conteo más exacto de células sanguíneas lo obtendremos con analizadores hematológicos automatizados (27)

#### **3.7.3.1.1. CONTAJE MANUAL POR MÉTODO REES – ECKER PROCEDIMIENTO**

El conteo de plaquetas se realiza en sangre anticoagulada con EDTA y diluida con oxalato de amonio al 1% mediante el uso de la pipeta para dilución de hematíes y el hemocitómetro (26)

#### **RECURSOS**

Sangre anticoagulada con EDTA

- Solución de oxalato de amonio al 1% y/ o Rees-Ecker
- Pipeta para dilución de hematíes
- Cámara de recuento de Neubauer
- Laminilla de cuarzo
- Caja de Petri con papel de filtro humedecido
- Agitador de pipetas
- Microscopio

## **MÉTODO DE PRUEBA.**

Mezcle cuidadosamente, por inversión por lo menos 10 veces, la sangre anticoagulada con el fin de obtener una muestra homogénea

Llene la pipeta con la muestra de sangre hasta la marca 1.0 exactamente

Elimine el exceso de sangre de las paredes externas de la pipeta para no contaminar la solución diluyente

Aspire el líquido diluyente hasta la marca 101 exactamente

Sujeta la pipeta entre los dedos índice y pulgar, desprenda la boquilla y deje en reposo durante 3 minutos

Agite durante 10 minutos

Descarte hasta la mitad del bulbo con el fin de eliminar el líquido del capilar e inmediatamente llene la cámara

Llene la cámara de Neubauer en ambos lados y coloque en ambiente húmedo por 10 minutos. El ambiente húmedo se logra cubriendo la cámara con una Caja de Petri que llevará adherido un disco de papel de filtro humedecido

Coloque la cámara en el microscopio. Enfoque con objetivo de 40X y observe el llenado de la cámara. No debe haber agregados plaquetarios. Cuidadosamente enfoque el cuadrado central

Disminuya la intensidad de la luz. Así le será más fácil distinguir y contar las plaquetas

Las plaquetas se reconocen como estructuras pequeñas, opacas, redondas o alargadas, medianamente refráctales, y a veces con prolongaciones

El número está determinado por el conteo de los 25 cuadrados en que se subdivide el cuadrado central, descartando las plaquetas que tocan las líneas derecha e inferior.

### Cálculo

Para calcular el número de plaquetas por  $\mu\text{L}$  de sangre, se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{PLT}/\mu\text{L} = P \times V \times D$$

$$\text{PLT}/\mu\text{L} = P \times 1000$$

PLT/  $\mu\text{L}$  = número de plaquetas contadas por  $\mu\text{L}$  de sangre.

P = número de plaquetas en un cuadrado grande

V = correlación de volumen (10)

D = correlación de dilución (100)

### **3.7.3.2. ÁREA DE INMUNOLOGÍA, PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.**

#### **REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

Bolsa de aluminio sellada que contiene:

- a. Un dispositivo casete
- b. Un desecante

Tubos capilares de 5  $\mu\text{L}$

Diluyente de muestra (1 vial, 5ml)

Un inserto (intrusiones de uso)

#### **MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS**

- a. Reloj o cronometro
- b. Lanceta

#### **ADVERTENCIA Y PRECAUCIÓN**

##### **PARA USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados idóneos

No habrá el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba

No use los dispositivos si se encuentran vencidos

Atemperature los reactivos de 15 a 30 C antes de usarlos

No utilice los componentes de otra prueba como sustituto de los componentes de este kit

No utilice sangre hemolizada para la prueba

Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipula los reactivos y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.

Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.

No fume no coma ni beba en áreas donde se manipulan muestras o reactivos del kit

Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuo biológico peligrosos

Manipule los controles positivo y negativo de la misma forma como las muestras de los pacientes

Los resultados de las pruebas pueden ser leídos 25 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados después de los 25 minutos puede generar resultados erróneos.

No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

### **3.7.3.2.1. PRUEBA RÁPIDA EN CASETE ONSITE DENGUE IgG/IgM**

#### **PRINCIPIO DE LA PRUEBA.**

La prueba rápida Onsite Dengue IgG/IgM (ANEXO N° 4) es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral el cual detecta anticuerpos contra los cuatro serotipos de virus del Dengue. La prueba de casete consiste en:

1.- una almohadilla de conjugado de color borgoña que contiene antígenos de la envoltura del dengue recombinante conjugado con oro coloidal (conjugados dengue) y conjugados IgG-oro de conejo.

2.-una membrana de nitrocelulosa que contiene anti IgG humano, banda m esta revestida con IgM anti-humano, y la banda C previamente recubiertas con anticuerpo de cabra anti IgG de conejo.

Cuando un volumen adecuado es dispensado en el pozo de muestra de casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si la IgG anti-dengue está presente, se unirá con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgG humano, formando una coloración borgoña indicando presencia de IgG contra el dengue positivo, resultado que sugiere una infección por dengue secundaria o infección por dengue anterior. La IgM anti-dengue, si está presente en la muestra, se une con los conjugados del Dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgM humana, formando una banda de color borgoña en la línea m, indicando una IgM positiva contra el dengue, resultado de una infección primaria reciente. Si se colorea la banda G y M, los resultados sugieren que se trate de una infección primaria y secundaria con el virus del Dengue. La ausencia de la bandas (G y M) sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (banda C), la cual muestra una coloración borgoña por la formación de un inmunocomplejo de cabra anti IgG de conejo/ conjugado IgG-oro de conejo, independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas de prueba (G y M). De lo contrario, el resultado de la prueba no es válida y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

## **PROCESAMIENTO**

- Lleve las muestras y los componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerado o congelada, mezclen bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado
- Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Coloque sobre una superficie limpia y plana.
- Asegure de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

- Llene el tubo capilar con el suero plasma o sangre total, no exceda la línea de muestra como se muestra en la imagen. El volumen es aproximado 5ul. Para mayor precisión transfiera la muestra con una pipeta que de exacto el volumen.
- Con el tubo capilar en posición vertical, dispense la muestra en el centro del pozo de muestra (poso S) asegurándose de que no haya burbujas de aire.
- Inmediatamente agregar 3 gotas (aprox. 110 -130 µL) de diluyente de muestra en el pozo de buffer pozo B (ANEXO N° 5)
- Contabilice el tiempo
- Lea los resultados en 25 minutos

Nota no lea los resultados después de los 25 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.

## **INTERPRETACION DE RESULTADOS**

**RESULTADO NEGATIVO:** si solo se colorea la banda C, hay ausencia de las bandas G y M indica que no hay anticuerpos anti-dengue en la muestra. El resultado es negativo o no reactivo (ANEXO N° 5).

### **RESULTADO POSITIVO:**

Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda G, el resultado indica la presencia de IgG anti-dengue; el resultado es IgG positivo o reactiva, sugiriendo etapa primaria tardía, secundaria o principios de la infección (ANEXO N° 5).

Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda M, el resultado indica la presencia de IgM anti-dengue, el resultado es IgM positivo o reactiva, sugiriendo una infección primaria por el virus del dengue (ANEXO N° 5).

Además de la presencia de la banda C, tanto la banda G como la M se colorean, la prueba indica la presencia de IgG e IgM anti-dengue. El resultado es IgG e IgM positiva o reactiva, señalando una infección por el virus del dengue primario o secundario temprano (ANEXO N° 5).



**Inválido:** si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete (ANEXO N° 5).

### **3.7.3.2.2. PRUEBA RÁPIDA EN CASETE ONSITE CHIKUNGUNYA IgM**

#### **PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba rápida Onsite Chikungunya IgM combo es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral. La prueba del casete consiste en:

- 1.- una almohadilla con conjugado coloreado de borgoña que contiene antígenos CHIK conjugados con oro coloidal (conjugado Chikungunya) y conjugados de conejo IgG-oro.
- 2.- una membrana de nitrocelulosa que contiene la banda de prueba (banda T) y la de control (banda C). La banda T esta pre-cubierta con IgM anti-humano reactiva, y la banda C esta pre-recubierta con anticuerpos de cabra anti-IgG de conejo (ANEXO N° 6).

Cuando se adiciona un volumen adecuado de muestra al pozo de muestra de casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Los anticuerpos IgM contra CHIK, si están presentes en la muestra se unen con los conjugados CHIK. El inmunocomplejo es capturado en la membrana por un anti-IgM humano pre-recubierta, formando una coloración borgoña en la banda T, indicando un resultado positivo para IgM contra Chikungunya.

LA AUSENCIA DE LA BANDA T indica un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (banda C), la cual muestra una coloración borgoña por la formación de un inmunocomplejo de cabra anti IgG de conejo/ conjugado IgG-oro de conejo, que se forma independientemente de la banda T. si no se colorea, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

## **PROCESAMIENTO**

- Lleve las muestras y los componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerado o congelada, mezclen bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado
- Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Coloque sobre una superficie limpia y plana.
- Asegure de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.
- Llene el gotero con la muestra. Con el gotero en posición vertical dispense 1 gota (aprox 30 – 45  $\mu$ L) de suero/plasma o 1 gota de sangre total (aprox 40- 50  $\mu$ L) en el pozo de muestra asegurándose de que no hayan burbujas.
- Inmediatamente agregue gota (aprox 35-45  $\mu$ L) de diluyente de muestra (ANEXO N° 6).
- Contabilice el tiempo
- Lea los resultados en 15 minutos. Los resultados positivos son visibles al minuto.

Nota no lea los resultados después de los 15 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.

## **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

**RESULTADO NEGATIVO:** si la banda C se colorea. La prueba indica que no hay IgM anti-CHIK detectable en la muestra. El resultado es negativo (ANEXO N° 7).

**RESULTADO POSITIVO:** si ambas bandas (C y T) se colorean, la prueba indica la presencia de IgM anti-CHIK en la muestra. El resultado es positivo (ANEXO N° 7).

**RESULTADO INVÁLIDO:** si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido pesar de que las otras bandas se tiñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete (ANEXO N° 7).

### **3.8.ASPECTOS ÉTICOS**

Todos los datos obtenidos reposan en las historias clínica del Centro De Salud Tipo C Unidad Médica Asistencial”, lo cual no se revelará los nombres de los pacientes bajo ninguna circunstancias.

Se ejecutó un consentimiento informado sencillo, ya que la información que se brinda en la misma no afecta a la integridad de los pacientes, y voluntariamente aceptaron participar en este estudio.

Los investigadores del estudio declararon no tener ningún tipo de conflicto de intereses con ninguna institución hospitalaria, tipo de tratamiento o prueba diagnóstica que se incluyen en esta investigación.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La investigación se realizó con 115 pacientes que fueron atendidos en el Centro de Salud Tipo C “Unidad Médica Asistencial”, durante el periodo mayo-julio 2016.

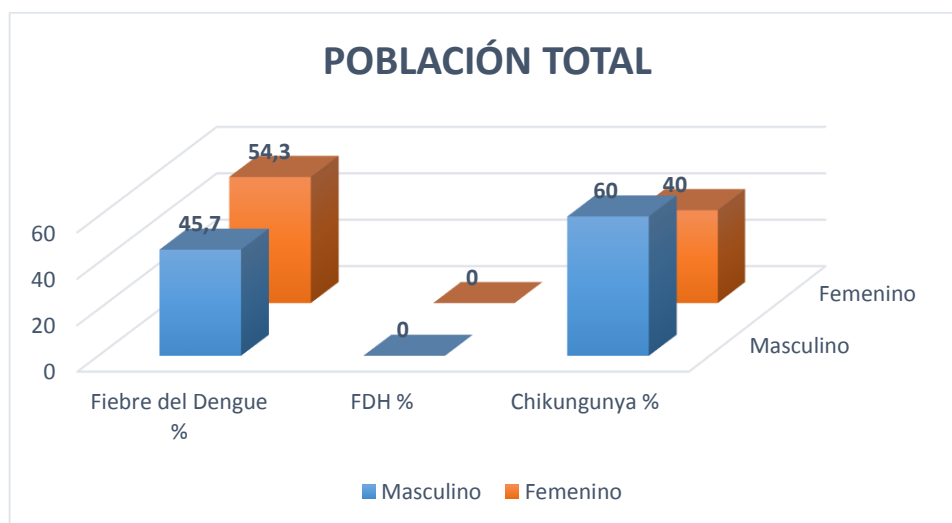
**TABLA N° 3. POBLACIÓN TOTAL**

SEXO	Fiebre del Dengue	Porcentaje %	FDH	Chikungunya	Porcentaje %
Masculino	48	45,7	0	6	60
Femenino	57	54,3	0	4	40
TOTAL	105	100	0	10	100

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** Resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**FIGURA N° 1. POBLACIÓN TOTAL**



**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** Resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**Interpretación:** Se trabajó con una población total 115 pacientes de los cuales fueron positivo para Fiebre Del Dengue 105 (100%) representando 48 (45,7 %) de sexo masculino, 57 (54,3 %) del sexo femenino, en Fiebre de Dengue Hemorrágico no se observó ningún pacientes, para Chikungunya se observa 10 (100%) de los cuales, 6 (60%) del sexo masculino y 4 (40%) del sexo femenino.

**Discusión.** De la población de 115 personas, analizada se observó que existió un mayor número de casos de Fiebre Del Dengue con un total de 105 (100%) personas, siendo más prevalentes en el género femenino, seguidamente se encontró un número significativo de 10 (100%) casos de Chikungunya representados por 6 (60%) varones y 4(40%) de mujeres, pero no se observó ningún caso de fiebre del dengue hemorrágico.

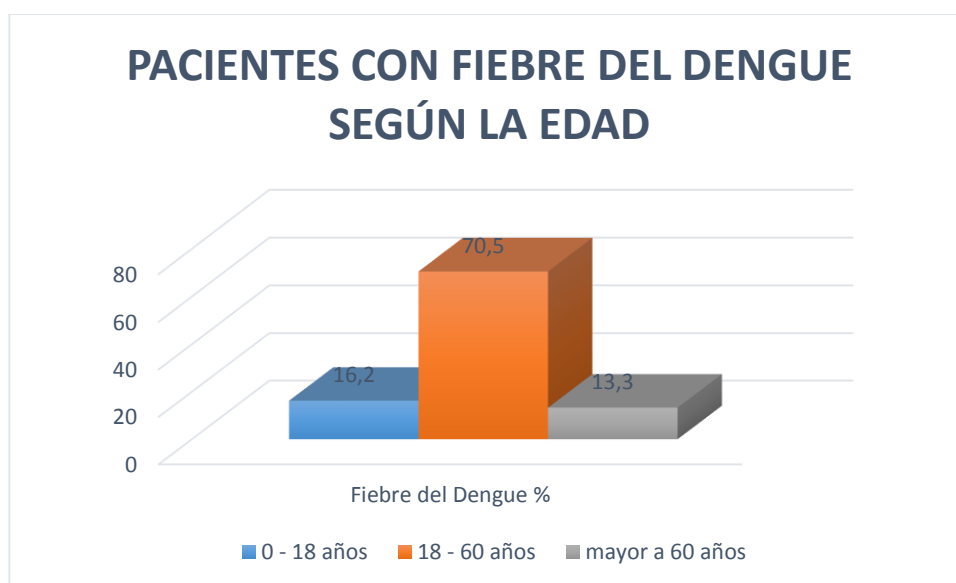
**TABLA N° 4. PACIENTES CON FIEBRE DEL DENGUE SEGÚN SU EDAD**

EDAD	Fiebre del Dengue	Porcentaje %
0 - 18 años	17	16,2
18 - 60 años	74	70,5
mayor a 60 años	14	13,3
TOTAL	105	100

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** Resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**FIGURA N°2. PACIENTES CON FIEBRE DEL DENGUE SEGÚN LA EDAD**



**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** Resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**Interpretación.** En la tabla N°4 y figura N° 2 se observa de los 105 (100%) pacientes que presentan Fiebre del Dengue, 17 (16,2%) están entre 0 a 18 años de edad, 74 (70,5%) de pacientes están entre las edades de 18 a 60 años, y 14 (13,3%) representa a los pacientes mayores de 60 años.

**Discusión.** De la población total de 105 persona que presentaron positividad para Fiebre Del Dengue, se observó que la población con mayor número de casos positivos fue entre 18 a 69 años de edad.

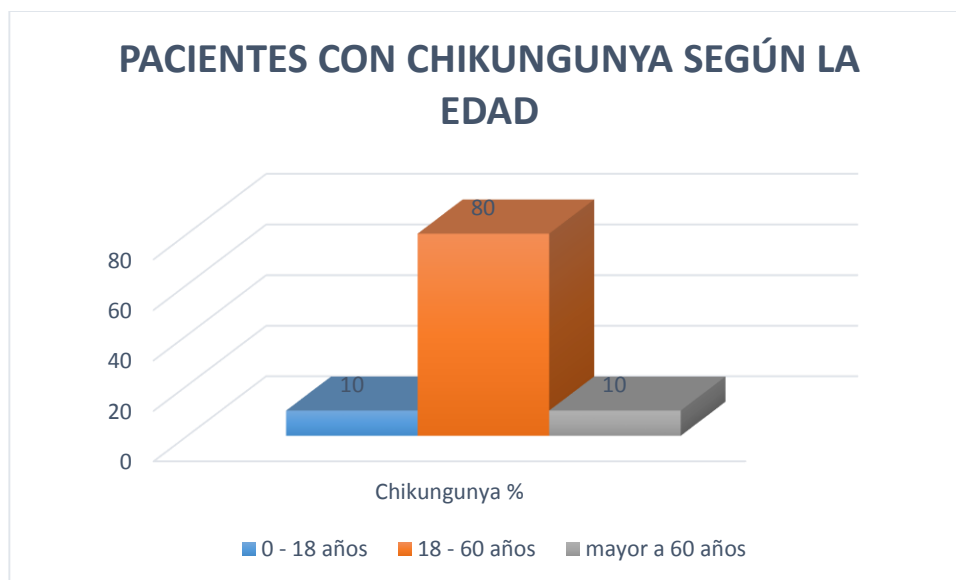
**TABLA N° 5. PACIENTES CON CHIKUNGUNYA SEGÚN EDAD**

EDAD	Chikungunya	Porcentaje %
0 - 18 años	1	10
18 - 60 años	8	80
mayor a 60 años	1	10
TOTAL	10	100

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** Resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**FIGURA N°3. PACIENTES CON CHIKUNGUNYA SEGÚN LA EDAD.**



**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** Resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**Interpretación.-** Del total de pacientes 10 (100%), que fueron diagnosticados con Chikungunya, 1(10%) representa a la población de 0 a 18 años, 8 (80%) corresponde a la edad entre 18 a 60 años, 1(10%) corresponden a mayores de 60 años.

**Discusión:** De una población de 115 personas en estudio, 10 (100%) personas fueron diagnosticados positivo para Chikungunya, siendo la población más susceptible para contraer esta enfermedad entre 18 a 60 años la mas

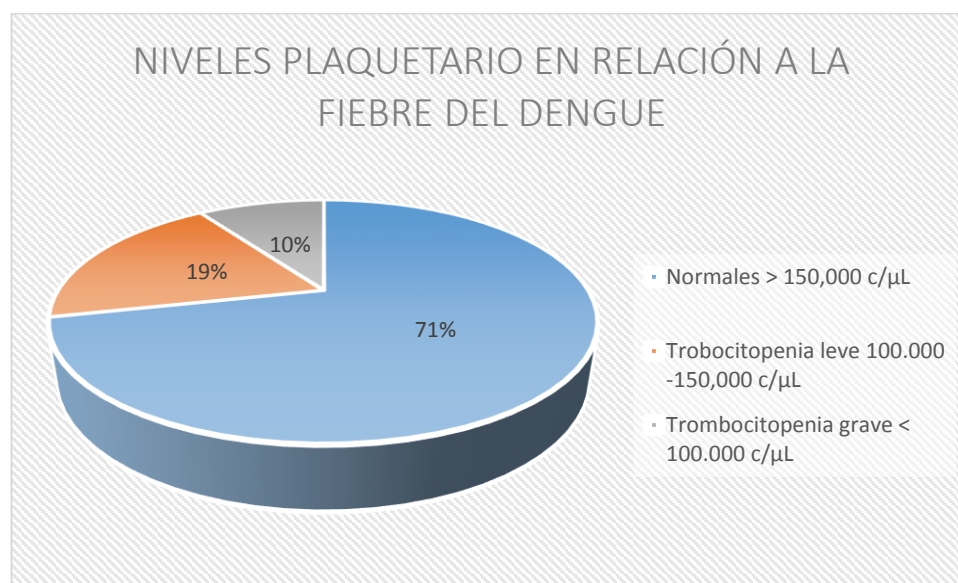
**TABLA N° 6. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A LA FIEBRE DEL DENGUE.**

CONTAJE PLAQUETARIO		Pacientes	Porcentaje %
Normales	> 150,000 c/μL	75	71,5
Trombocitopenia leve	100.000 -150,000 c/μL	20	19
Trombocitopenia grave	< 100.000 c/μL	10	9,5
	TOTAL	105	100

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**FIGURA N° 4. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A LA FIEBRE DEL DENGUE.**



**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**Interpretación.-** En el tabla N° 6 y figura N°4 se observa que de un total de 105 (100%) casos positivos para Fiebre del Dengue, 75 casos correspondiente al 71,5% de pacientes presentaron un valor normal de plaquetas, 20 casos correspondiente al 19% presentaron una trombocitopenia leve con un rango comprendido entre 100.000-150,000c/μL, 10 casos correspondiente al 9,5%, presento una trombocitopenia grave con un contaje plaquetario menor a 100,000c/μL.

**Discusión:** Luego de analizar los resultados de los 105 casos positivos para Fiebre del Dengue se observó que los niveles plaquetarios se mantenían en sus límites inferiores entre 150,000 y 200.000c/ μL equivalente a un 71,5% de personas en estudio, se observó una trombocitopenia levé en un 19% de los casos y trombocitopenia grave en un 9,5% de los pacientes, los cuales en los casos de trombocitopenia leve y grave fueron internados para su pronta recuperación.



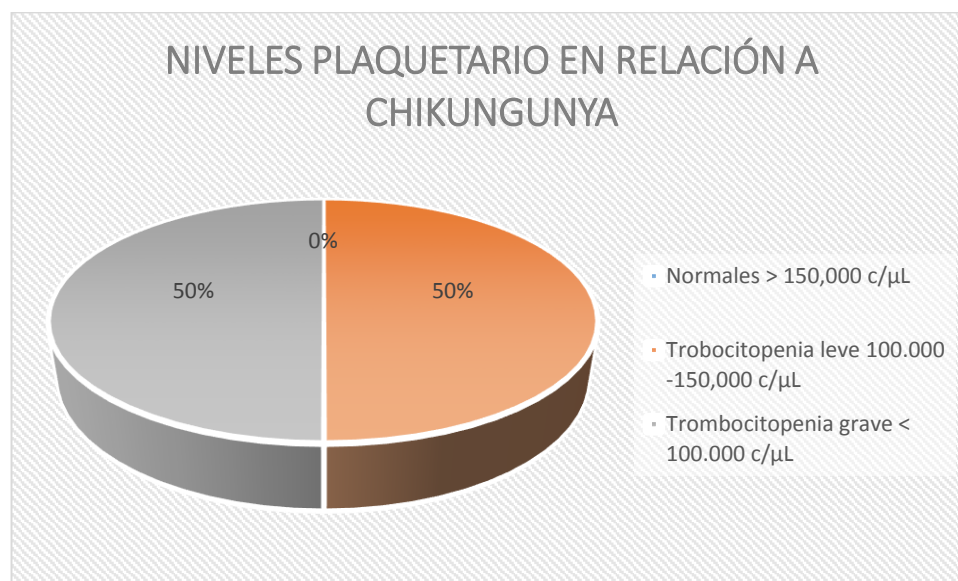
**Tabla N° 7. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A CHIKUNGUNYA.**

CONTAJE PLAQUETARIO		Pacientes	Porcentaje %
Normales	> 150,000 c/μL	0	
Trombocitopenia leve	100.000 -150,000 c/μL	5	50
Trombocitopenia grave	< 100.000 c/μL	5	50
	TOTAL	10	100

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**FIGURA N° 5. NIVELES PLAQUETARIO EN RELACIÓN A CHIKUNGUNYA.**



**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**Interpretación.-** En la tabla N°7 y figura N° 5 se detalla que de los 10 (100%) pacientes que tuvieron el diagnostico de Chikungunya, 5 (50%) reportaron una trombocitopenia levé comprendida entre 100.000-150,000c/ μL, y 5 (50%) de pacientes presentaron una trombocitopenia grave en los rangos menores a 100,000 c/μL.

**Discusión:** En comparación con la Fiebre del Dengue los casos positivos de Chikungunya presentaron una disminución plaquetarias dando como resultado una trombocitopenia grave ( $<100,000$  c/ $\mu$ L), en un 50 % de los pacientes en estudio y un 50% de trombocitopenia leve (100,000-150,000 c/ $\mu$ L), prefiriendo internación de todos los paciente para su pronta recuperación.

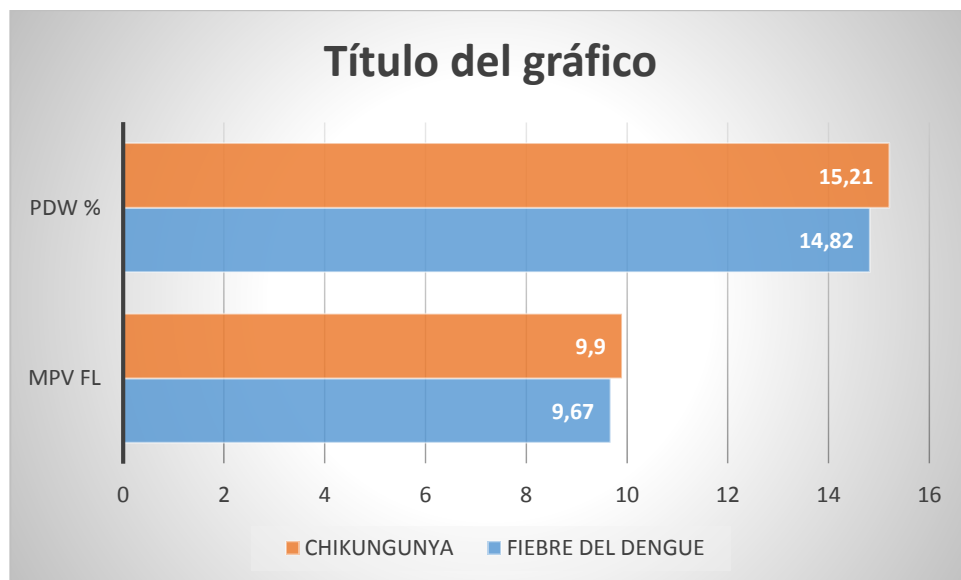
**TABLA N°8. DESVIACIÓN MEDIA DE MPV Y PDW EN RELACIÓN A FIEBRE DEL DENGUE Y CHINKUNGUNYA.**

Patología	MPV fL	PDW %
FIEBRE DEL DENGUE	9,67	14,82
CHIKUNGUNYA	9,9	15,21

**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**FIGURA N° 6. DESVIACIÓN DE MPV Y PDW EN RELACIÓN A FIEBRE DEL DENGUE Y CHINKUNGUNYA.**



**Elaborado por:** Quilligana, Carlos

**Fuente:** resultados de laboratorio. (Anexo N° 1)

**INTERPRETACIÓN:** En la tabla N°8 y figura N° 6 se observa la desviación media del MPV 9,67 fL y PDW 14,82% en los casos positivos de la Fiebre Del Dengue y para los casos positivos para Chikungunya la desviación media es de MPV de 9,9 fL con un PDW de 15,21% en los casos positivos de Chikungunya.

**DISCUSIÓN:** Relacionando los datos recogidos en los caso de Fiebre Del Dengue y Chikungunya, podemos mencionar que el mayor grado de variabilidad del MPV y PDW se encuentra en los casos positivos para Chikungunya.

## **4.2 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.**

Para la comprobación de la hipótesis se utilizó, el Coeficiente de variación, debido a que se necesita comprobar la sensibilidad de cada uno de los grupos frente al diagnóstico al que están expuestas y como estas reaccionaron en sus plaquetas

### **4.2.1 PLANTEO DE LA HIPÓTESIS:**

#### **HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1):**

La determinación del ancho de distribución plaquetaria es un marcador oportuno y diferencial para Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya.

#### **HIPÓTESIS NULA (H<sub>0</sub>):**

La determinación del ancho de distribución plaquetaria no es un marcador oportuno y diferencial para Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya.

### **4.2.2 ESTIMADOR ESTADÍSTICO:**

$$CV = \frac{\delta}{\bar{x}}$$

#### 4.2.3 NIVEL DE SIGNIFICANCIA Y REGLA DE DECISIÓN:

Se acepta la hipótesis nula si el valor a calcularse por el coeficiente de decisión está más cercano a cero

#### 4.2.4 CÁLCULO DEL ESTIMADOR ESTADÍSTICO DE COEFICIENTE DE VARIACIÓN

Se realiza la matriz de tabulación cruzada se toma en cuenta los resultados entregados por las muestras de plaquetas en las pruebas de Dengue y Chikungunya. Se trabaja en los valores que permiten calcular el coeficiente de variación entre las dos medidas de referencia para el cálculo estos son la media aritmética y la desviación estándar esto se muestra en la tabla siguiente:

**TABLA N°9. Matriz Cruzada**

Planteamiento de la Matriz de Cálculo del Coeficiente de Variación

SEXO		PLAQUETAS	MPV fL	PDW %
Femenino	Media	152,548	97,597	14,866
	N	62	62	62
	Desviación. Estándar	41,060	7,153	0,290
	Coeficiente Variación	0,269	0,073	0,020
Masculino	Media	154,774	96,377	14,857
	N	53	53	53
	Desviación. Estándar	39,304	7,664	0,314
	Coeficiente Variación	0,254	0,080	0,021
Total	Media	153,574	97,035	14,862
	N	115	115	115
	Desviación. Estándar	40,100	7,385	0,300
	Coeficiente Variación	0,261	0,076	0,020

**Elaborado por:** Carlos Quilligana.

**Fuente:** Investigación de campo.

Con los datos obtenidos a través de la relación entre la plaquetas y sus características de conteos y los grupos de pacientes que fueron evaluados, en una matriz cruzada trabajada en SSPS, se rechazó la hipótesis nula debido a que existe el conteo plaquetario global o total si se presenta como un marcador oportuno y diferencial por lo que se acepta a la hipótesis alterna “La determinación del ancho de distribución plaquetaria es un marcador oportuno y diferencial para Fiebre del Dengue, Fiebre del Dengue Hemorrágico y Chikungunya.”.

### **4.3 CONCLUSIONES GENERALES.**

Después de haber realizado los diferentes análisis de laboratorio y correlacionado las dos variables se concluye que existe una alteración del Ancho de Distribución Plaquetaria en los pacientes con fiebre del Dengue y Chikungunya.

- Al Centro de Salud tipo C “Unidad Médica Asistencial” han acudido un gran número de personas con signos y síntomas compatibles para Fiebre del Dengue y Chikungunya, aplicando los criterios de exclusión se tomó una población de 115 personas de los cuales 105 fueron positivos para Fiebre del Dengue y 10 casos positivos para Chikungunya, se observó una mayor cantidad de pacientes mujeres.
- Al apreciar los valores del Ancho de Distribución Plaquetaria según la Fiebre del Dengue y Chikungunya, nos damos cuenta que los pacientes con casos positivos para Chikungunya presentan un mayor porcentaje de anisocitosis plaquetaria. La edad de los pacientes no interfiere en la variación de la anisocitosis plaquetaria.
- Determinamos que la mayor incidencia de contraer Fiebre del Dengue o Chikungunya es la población comprendida entre los 18 a 60 años de edad por razones sociales, biodiversidad climática.
- Determinamos que los índices plaquetarios en los casos de Fiebre del Dengue tienden a disminuir manteniéndose en los límites referenciales inferiores en la

mayoría de los pacientes, también se observó en algunos casos una trombocitopenia leve o grave para lo cual se requiere internación del paciente para su eficaz recuperación.

- Determinamos trombocitopenia en los casos positivos de Chikungunya que requirieron una internación en las casas de salud para una recuperación, debido a que este virus de la Chikungunya afecta al sistema óseo y podría conllevar a trombocitopenia grave e incluso la muerte del paciente.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Alfau Ascuasiati A. Plagas domesticas, Historia, Patologias, Plaguicidas y Control. Segunda ed. Alfau Ascuasiati A, editor. España: Publicaciones Palibrio; 2012.(1)
2. Ausina V, Moreno S. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Primera ed. Ausina V, Moreno S, editors. España: Editorial Medica Panamericana; 2005.(31)
3. Bezares F, Pugol G, Arra A. Hematología. 1st ed. Argentina: Sociedad Argentina de Hematologia; 2005.(19)
4. Rodak B. HEMATOLOGIA, Fundamentos y Aplicaciones Clinicas. Segunda ed. Rodak B, editor. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2002.(21)
5. Romero R. Microbiologia y parasitologia humana. Tercera ed. Romero R, editor. Mexico: Editorial Medica Panamericana; 2007.(37)
6. Rubio Campal F, Garcia Espinosa B, Carrasco Carrasco M. Fundamentos y técnicas de análisis hematológicos y citológicos. Primera ed. Carmen LC, editor. Madrid-España: Ediciones Paraninfo,S.A; 2004 (27)
7. Ulrich W. HISTOLOGIA. Segunda ed. Ulrich W, editor. España: Editorial medica Panamericana; 2006.(15).

### **LINKOGRAFIA.**

1. Arias J. ANÁLISIS DE LA RESPUESTA INMUNITARIA INFLAMATORIA EN LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DENGUE Y SU SIGNIFICANCIA CLÍNICA. Tesis Doctoral. ALCALÁ DE HENARES: UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, DEPARTAMENTO DE MEDICINA; 2011. Report No.: UNIDAD I + D ASOCIADA AL CNB-CSIC.(14)
2. Castillo V. [Online].; 2014 [cited 2016 Julio 19. Available from: <http://es.slideshare.net/victorcastillo271/las-plaquetas-origen-formacin-y-funcin>.(22)

3. CTK, Biotech. [Online]. [cited 2016 Julio 3o. Available from: <http://harmony-vos.sk/ORGENICS/PRIBALOVE/RAPID/R0061C%20DENGUE%20.pdf>.(45)
4. Defillo B. Chikungunya y sus sistemas [documento pdf].; 2014 [cited 2016 Julio 19. Available from: <http://www.bernardodefillo.com/ChikungunyaSistTot.pdf>.(43)
5. ECUADOR MDSPD. De la situación de Dengue Ecuador 2013 [Informe].; 2013 [cited 2016 Junio 14. Available from: <http://www.salud.gob.ec/boletin-epidemiologico-no-38-de-la-situacion-de-dengue-ecuador-2013/>.(6)
6. ESPINOSA I. <http://www.kiskesebe.com/>. [Online].; 2015 [cited 2016 Junio 06. Available from: <http://www.kiskesebe.com/2015/03/dengue-y-plaquetas/>.(10)
7. Estèbanez P. Medicina humanitaria. Primera ed. España: Ediciones Díaz de Santos; 2005.(33)
8. Federación Española de Empresas de Tecnología Sanitaria. <http://www.labtestsonline.es/>. [Online].; 2012 [cited 2016 Junio 22. Available from: <http://www.labtestsonline.es/tests/plateletcount.html?tab=5>.(18)
9. Garcia M. RECUENTO DE PLAQUETAS EN FROTÍS SANGUÍNEOS.; 2015 [cited 2016 Junio 29. Available from: <http://practicashema.blogspot.com/2015/02/recuento-de-plaquetas-en-frotis.html>.(28)
10. Garcia B, Rubio F, Crespo M. TECNICAS DE ANÀLISIS HEMATOLÒGICO. Primera ed. Lopez M, editor. España: Ediciones Parainfo; 2015.(16)
11. Guilen M. VALORES REFERENCIALES DE RECUENTO DE PLAQUETAS EN LA POBLACION ESTUDIANTIL MASCULINA DE 12 A 19 AÑOS DE LOS COLEGIOS FISCALES DE LA CUIDAD DE LOJA. 2011.(12)
12. Guzmàn S, Cedillo F. Fundamentos para el ejercicio de la medicina. Primera ed. Guzmàn S, Ramon F, editors. Mexico: Editorial el Manual Moderno; 2012.(36)
13. Hoyos RiveraI A, Pérez Rodríguez A. Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. Scielo. 2010 Marzo; 36(1).(5)
14. Instituto Nacional de Gestión Sanitaria. Actualización de la Fase Preanalítica de los Laboratorios Clínicos del Hospital “Cruz Roja” del INGESA de Ceuta. Manual de Procedimientos Tecnicos. ceuta: HOSPITAL CRUZ ROJA, Laboratorio de Análisis Clínicos; 2007.(44)



15. Lago M. Manual de Practicas de Laboratorio.; 2012 [cited 2016 Junio 28. Available from: <http://equipo6plaquetas.blogspot.com/2012/11/practicas-de-laboratorio.html>.(25)
16. Lopez A. <http://www.elmundo.es>. [Online].; 2013 [cited 2016 Junio 29. Available from: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2013/04/05/biociencia/1365155065.html>.(34)
17. Martínez Torres E. Dengue. SCIELO. 2008 Diciembre; 22(64).(32)
18. MINISTERIO DE SALUD, PRESIDENCIA DE LA NACION.. Buenos Aires; 2013 [cited 2016 Julio 19. Available from: <http://www.msal.gov.ar/index.php/programas-y-planes/441-fiebre-chikungunya>.(42)
19. MINISTERIO DE SALUD.. CHILE; 2011 [cited 2016 Julio 04. Available from: <http://web.minsal.cl/sites/default/files/files/ProtocoloDengue2011.pdf>.(39)
20. MINISTERIO DE SALUD PUBLICA DEL ECUADOR. <http://www.salud.gob.ec/>. [Online].; 2013 [cited 2016 Mayo 06. Available from: <http://www.salud.gob.ec/boletin-epidemiologico-no-39-de-la-situacion-de-dengue-en-el-ecuador-2013/>.(7)
21. Mirta RP, Guzmán MG. Dengue y dengue hemorrágico en las América. Scielo. 2007 Abril; 21(4).(3)
22. Nagua G. DENGUE EN PERSONAS DE 20-30 AÑOS DE EDAD QUE ACUDEN AL SUBCENTRO DE SALUD VENEZUELA DEL CANTON MACHALA. Machala: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA, FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD; 2012.(38)
23. Ordoñez D. DETERMINACIÓN DE DENGUE MEDIANTE DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINA M Y SU RELACIÓN EN LA ALTERACIÓN DEL PERFIL HEPÁTICO DE LOS PACIENTES QUE ACUDEN AL HOSPITAL TEÓFILO DÁVILA DEL CANTÓN MACHALA EN EL PERIODO OCTUBRE 2012 ABRIL 2013. TESIS. Loja: UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA, CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO; 2013.(13)
24. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. [Online].; 2016 [cited 2016 Julio 04. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/>.(41)

25. Organización Panamericana de Salud. Cuál es la diferencia entre el zika, el dengue y la chikungunya.; 2016 [cited 2016 Junio 29. Available from: <http://www.infobae.com/2016/01/21/1784671-cual-es-la-diferencia-el-zika-el-dengue-y-la-chikungunya/>.(29)
26. Organizaciòn Mundial de la Salud. Dengue y dengue grave.; 2016 [cited 2016 Junio 29. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>.(30)
27. OMS. <http://www.paho.org/>. [Online].; 2015 [cited 2016 Mayo 06. Available from: [http://www.paho.org/ecu/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1339:se-presenta-caso-importado-de-chikungunya-en-ecuador&Itemid=360](http://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=1339:se-presenta-caso-importado-de-chikungunya-en-ecuador&Itemid=360).(8)
28. Placeres J, Martinez J, Lisandro C. Fiebre causada por el virus Chikungunya, enfermedad emergente que demanda prevención y control. Scielo. 2014 Octubre; 36(5).(4)
29. PÉREZ REYES M. <http://hoy.com.do/>. [Online].; 2014 [cited 2016 Junio 06. Available from: <http://hoy.com.do/diferencias-entre-chikungunya-y-dengue/>.(11)
30. Reece A, Hobbing J. Obstetricia Clinica. Tercera ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2007.(24)
31. Rivera H. Manual practico para la Interpretacion de los resultados de laboratorio en la Clinica Naturopatica. 2006.(20)
32. Ruiz Reyes G, Ruiz Arguelles A. Fundamentos de la Interpretaciòn Clinica de los Exámenes de Laboratorio. Segunda ed. Mexico: Editorial Medica Panamericana; 2010.(17)
33. Saavedra S. RECUENTO DE PLAQUETAS.; 2008 [cited 2016 Junio 29. Available from: <http://recuentodeplaquetas.blogspot.com/2008/02/recuento-de-plaquetas.html>.(26)
34. Silva L. Cadena Epidemiológica del Dengue.; 2015 [cited 2016 Junio 29. Available from: <http://myslide.es/documents/cadena-epidemiologica-del-dengue-55d0834d5d94c.html#>.(35)
35. Tips H. Funciones y estructura de las plaquetas.; 2016 [cited 2016 Julio 19. Available from: <http://healthtipsing.com/es/pages/57908>.(23)

36. Uribarren Berrueta T. <http://www.facmed.unam.mx/>. [Online].; 2016 [cited 2016 Junio 06. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/dengue.html>.(9)
37. Wilson E. CLINICAS MEDICAS DE NORTEAMERICA. Primera ed. Glover R, editor. España: Elsevier Masson; 2008.(40)

### CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASE DE DATOS UTA

1. **EBRARY:** Armengaud, Alexis, Campbell-Lendrum, Diarmid, y Delaunay, Pascal. hors colección: Los cambios ambientales y de salud humana 2012: Recuperado el 17 de agosto de 2016. <http://site.ebrary.com/lib/uta/reader.action?docID=10836918&p00=chikungunya&ppg=68>
2. **EBRARY:** Beeching, Nick, y Gill, Geoff. Lecture Notes: Medicina Tropical: Medicina Tropical (7). Somerset, GB: Wiley-Blackwell, 2014. ProQuest ebrary. Recuperado el 12 de julio de 2016. <http://site.ebrary.com/lib/uta/reader.action?docID=10862651&p00=chikungunya&ppg=293>
3. **EBRARY:** Lashley, Felissa R., PhD, RN, FABMGG, y Durham, Jerry D., PhD, RN, FAAN, eds. Enfermedades Infecciosas Emergentes: tendencias y problemas, Segunda Edición (2). Nueva York, Estados Unidos: Springer Publishing Company, 2007. ProQuest ebrary. Recuperado el 17 de julio de 2016. <http://site.ebrary.com/lib/uta/reader.action?docID=10176167&p00=fiebre+de+de+ngue&ppg=143>
4. **EBRARY:** Davis, Jonathan R., y Lederberg, Joshua, eds. Enfermedades Infecciosas Emergentes de lo global a lo local Perspectiva: Resumen del taller. Washington, Estados Unidos: National Academies Press, 2001. ProQuest ebrary. Recuperado el 10 de agosto de 2016. <http://site.ebrary.com/lib/uta/reader.action?docID=10068499&p00=fiebre+de+de+ngue&ppg=63>

5. **EBRARY:** Jackson, William. Las enfermedades zoonóticas y transmitidas por vectores Recuperado el 1 de agosto de 2016.  
<http://site.ebrary.com/lib/uta/reader.action?docID=10993875&ppg=103>

# ANEXOS

GRÁFICO N°1. MADURACIÓN DE LOS MEGACARIOCITOS.

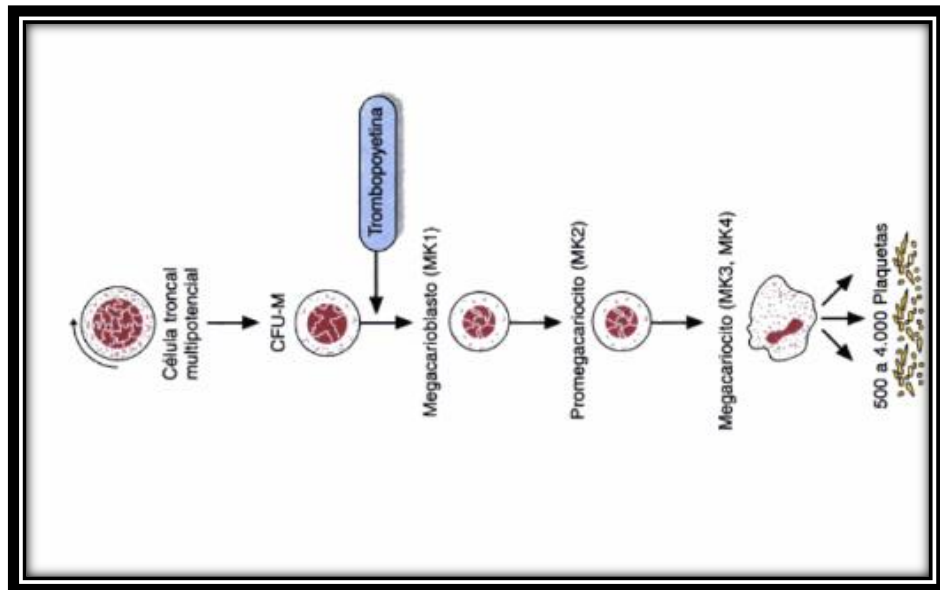
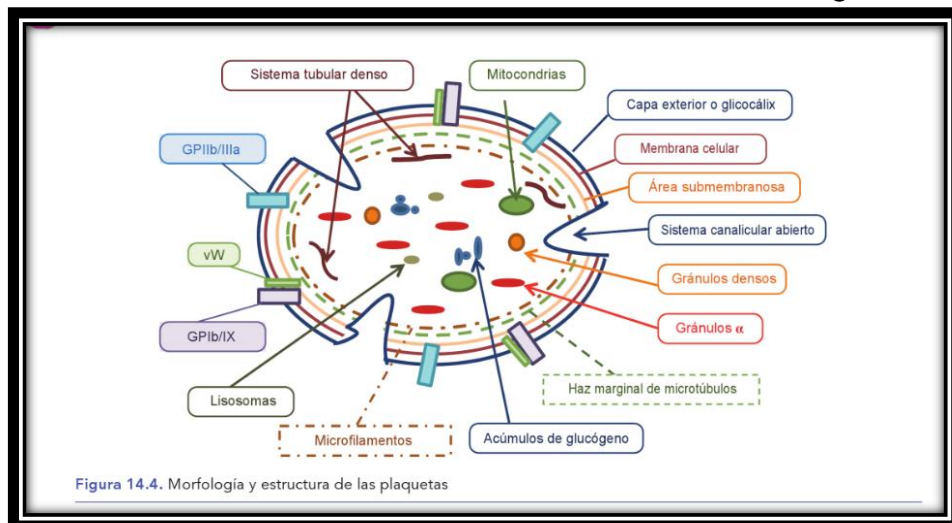
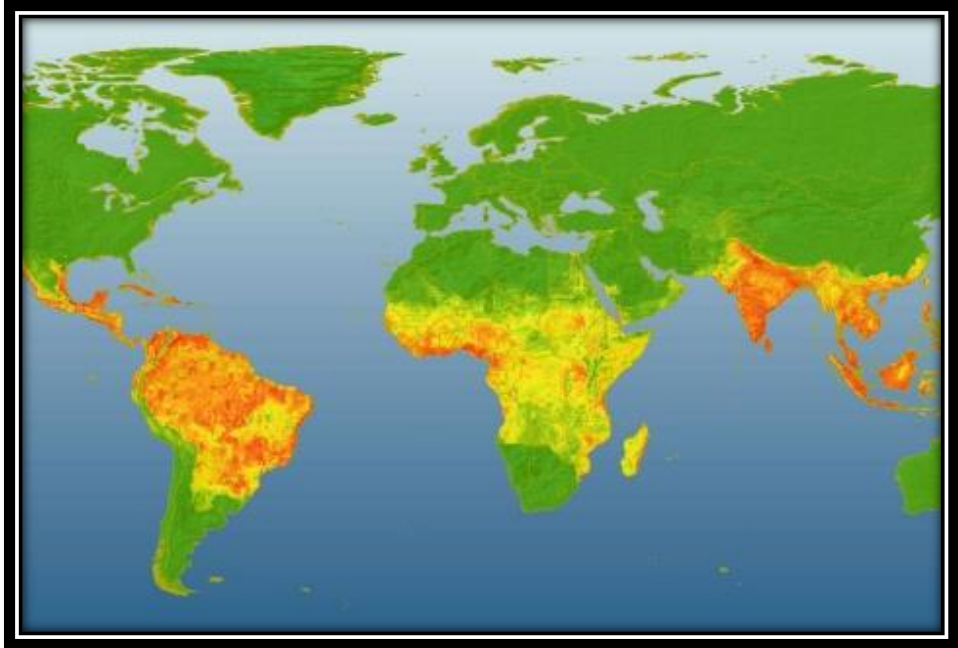


GRÁFICO N°2. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE LAS PLAQUETAS.



**GRÁFICO N°3. DISTRIBUCIÓN DEL DENGUE.**



**ANEXO N° 1. RESULTADOS OBTENIDOS DE LABORATORIO.**

<b>lista de pacientes</b>							
	codigo	sexo	edad	plaquetas	MPV fL	PD W %	diagnostico
<b>1</b>	91	M	22	196	10,2	14,9	Fiebre del Dengue
<b>2</b>	10	M	45	199	9,7	15,2	Fiebre del Dengue
<b>3</b>	8708	F	25	141	10	14,7	Fiebre del Dengue
<b>4</b>	8712	M	29	168	10,3	14,9	Fiebre del Dengue
<b>5</b>	8713	F	49	168	8,9	14,9	Fiebre del Dengue
<b>6</b>	714	M	43	152	9,9	14,8	Fiebre del Dengue
<b>7</b>	718	M	41	195	10,3	15	Fiebre del Dengue
<b>8</b>	721	F	22	179	8,5	14,3	Fiebre del Dengue
<b>9</b>	8727	M	29	181	8,7	14,3	Fiebre del Dengue
<b>10</b>	8723	M	39	186	8,6	14,3	Fiebre del Dengue
<b>11</b>	8734	M	27	198	10,1	15,1	Fiebre del Dengue
<b>12</b>	8739	F	58	189	9,7	15,1	Fiebre del Dengue
<b>13</b>	177	F	32	179	9,1	14,6	Fiebre del Dengue
<b>14</b>	8745	M	22	165	8,8	14,5	Fiebre del Dengue
<b>15</b>	8746	M	40	189	9,7	14,7	Fiebre del Dengue
<b>16</b>	6	M	24	104	10,9	15,2	Fiebre del Dengue
<b>17</b>	8601	F	38	62	10,1	15	Fiebre del Dengue
<b>18</b>	8762	M	54	163	10,6	15,4	Fiebre del Dengue
<b>19</b>	236	M	32	199	8,5	14,2	Fiebre del Dengue
<b>20</b>	231	F	56	172	10,3	15	Fiebre del Dengue

<b>21</b>	8700	F	21	150	9	14,7	Fiebre del Dengue
<b>22</b>	97	F	20	109	11,4	14,6	Fiebre del Dengue
<b>23</b>	1	F	42	177	9,7	15	Fiebre del Dengue
<b>24</b>	11	M	31	172	9,9	14,8	Fiebre del Dengue
<b>25</b>	13	M	25	122	9,5	14,8	Fiebre del Dengue
<b>26</b>	66	F	26	212	10,5	15,1	Fiebre del Dengue
<b>27</b>	11	F	52	195	8,9	15	Fiebre del Dengue
<b>28</b>	2	F	23	164	9,7	14,9	Fiebre del Dengue
<b>29</b>	42	F	22	104	10,4	15,2	Fiebre del Dengue
<b>30</b>	62	F	53	212	9,8	14,7	Fiebre del Dengue
<b>31</b>	27	M	28	148	10,8	15,1	Fiebre del Dengue
<b>32</b>	8251	M	56	137	10,1	14,8	Fiebre del Dengue
<b>33</b>	8253	F	42	143	10,5	15,5	Fiebre del Dengue
<b>34</b>	223	M	30	85	10,6	14,9	Fiebre del Dengue
<b>35</b>	8263	M	29	160	8,9	14,2	Fiebre del Dengue
<b>36</b>	8284	M	40	191	10,8	14,9	Fiebre del Dengue
<b>37</b>	8300	F	48	172	9,1	14,8	Fiebre del Dengue
<b>38</b>	74	M	39	176	9,7	15	Fiebre del Dengue
<b>39</b>	8323	F	20	162	9,4	14,5	Fiebre del Dengue
<b>40</b>	8330	M	48	163	8,5	14,6	Fiebre del Dengue
<b>41</b>	8331	F	29	198	8,5	14,3	Fiebre del Dengue
<b>42</b>	8446	M	44	165	9	14,8	Fiebre del Dengue
<b>43</b>	8335	F	39	148	9,9	14,7	Fiebre del Dengue
<b>44</b>	8304	M	53	191	9,5	15	Fiebre del Dengue

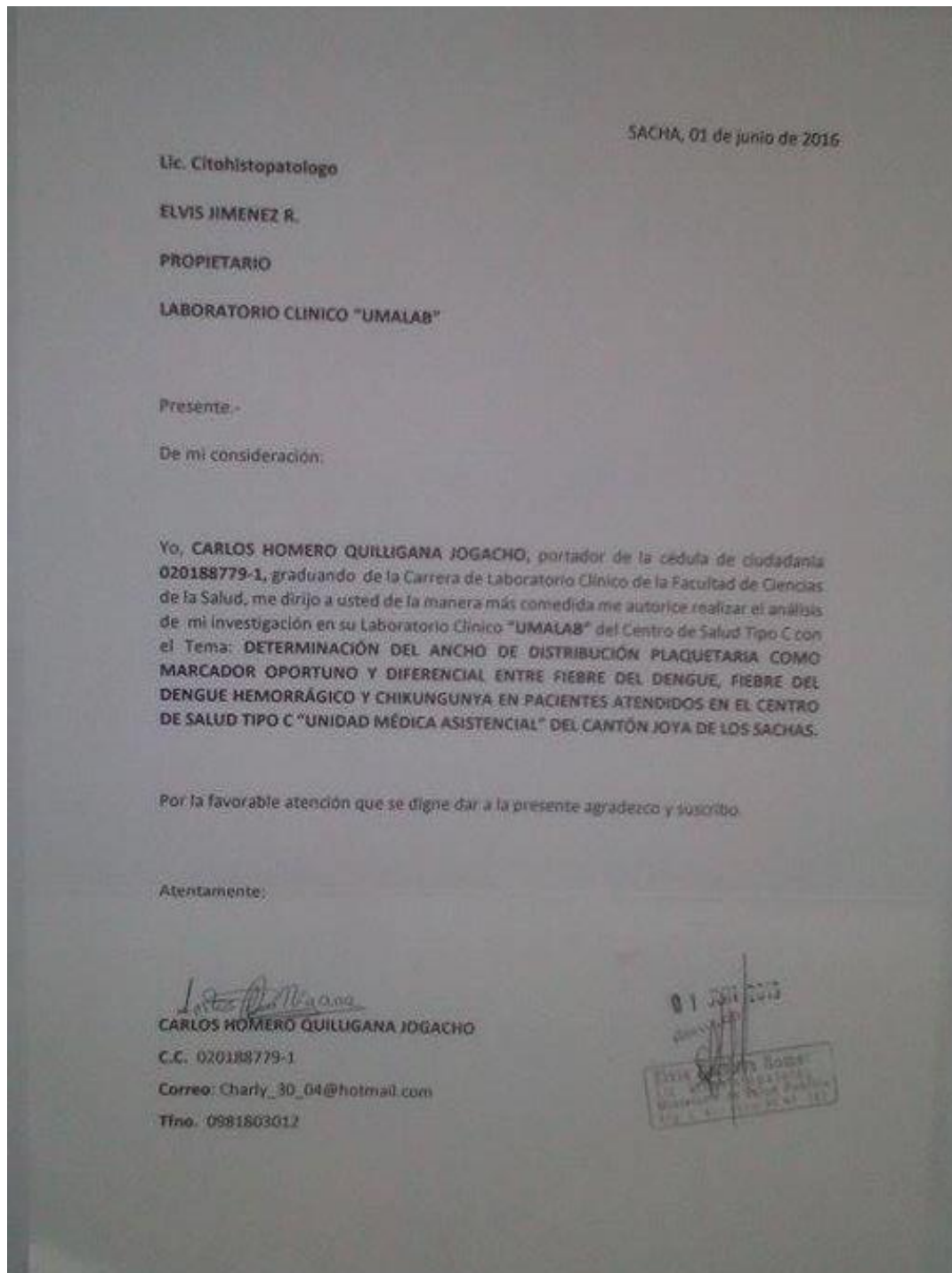


<b>45</b>	8645	F	29	178	10,2	14,9	Fiebre del Dengue
<b>46</b>	8386	M	42	88	10,3	15,2	Fiebre del Dengue
<b>47</b>	8646	F	55	198	10,4	14,8	Fiebre del Dengue
<b>48</b>	8645	F	29	178	10,2	14,9	Fiebre del Dengue
<b>49</b>	8640	F	41	170	9,1	14,4	Fiebre del Dengue
<b>50</b>	8634	F	26	199	9,6	15	Fiebre del Dengue
<b>51</b>	8632	M	44	196	9,8	15,1	Fiebre del Dengue
<b>52</b>	8614	F	38	173	9,2	14,8	Fiebre del Dengue
<b>53</b>	8604	F	39	160	9,8	15,1	Fiebre del Dengue
<b>54</b>	8590	F	46	135	10,2	15	Fiebre del Dengue
<b>55</b>	8446	M	44	165	9	14,8	Fiebre del Dengue
<b>56</b>	8576	M	24	156	8,5	14,4	Fiebre del Dengue
<b>57</b>	8565	F	52	199	9,7	14,8	Fiebre del Dengue
<b>58</b>	8583	M	40	196	10,5	15	Fiebre del Dengue
<b>59</b>	8428	F	26	164	10,1	14,6	Fiebre del Dengue
<b>60</b>	9879	M	32	67	9,3	14,9	Fiebre del Dengue
<b>61</b>	8494	M	43	155	9,3	14,8	Fiebre del Dengue
<b>62</b>	8346	M	55	93	8,5	14,8	Fiebre del Dengue
<b>63</b>	8354	M	32	112	9,9	15,2	Fiebre del Dengue
<b>64</b>	8364	M	29	106	9,9	14,6	Fiebre del Dengue
<b>65</b>	8373	F	32	98	10,1	14,7	Fiebre del Dengue
<b>66</b>	8375	M	39	102	9,1	14,3	Fiebre del Dengue
<b>67</b>	8382	M	31	129	9,6	14,9	Fiebre del Dengue
<b>68</b>	8399	M	33	186	10,2	15	Fiebre del Dengue

<b>69</b>	63	F	55	102	10	14,9	Fiebre del Dengue
<b>70</b>	8322	F	25	100	10	14,5	Fiebre del Dengue
<b>71</b>	8485	F	42	146	11,1	15,3	Fiebre del Dengue
<b>72</b>	8461	M	32	188	8,9	14,6	Fiebre del Dengue
<b>73</b>	8489	F	25	186	8,1	14,4	Fiebre del Dengue
<b>74</b>	8474	F	33	169	10,3	15,1	Fiebre del Dengue
<b>75</b>	8467	M	15	192	9,8	15,5	Fiebre del Dengue
<b>76</b>	8587	M	18	162	8,5	14,6	Fiebre del Dengue
<b>77</b>	8759	F	18	90	9,3	15	Fiebre del Dengue
<b>78</b>	8779	F	16	203	9,8	14,5	Fiebre del Dengue
<b>79</b>	8589	F	16	115	9,8	14,9	Fiebre del Dengue
<b>80</b>	8584	F	17	129	9,6	15	Fiebre del Dengue
<b>81</b>	8519	F	16	181	8,9	14,5	Fiebre del Dengue
<b>82</b>	8730	F	18	160	10,8	15,3	Fiebre del Dengue
<b>83</b>	8710	F	17	109	9,7	14,8	Fiebre del Dengue
<b>84</b>	8593	F	8	192	9,6	15	Fiebre del Dengue
<b>85</b>	199	M	7M	199	9,9	14,8	Fiebre del Dengue
<b>86</b>	8695	F	10	119	9,5	14,8	Fiebre del Dengue
<b>87</b>	36	M	6	181	9,2	14,7	Fiebre del Dengue
<b>88</b>	52	M	2	176	8,8	14,4	Fiebre del Dengue
<b>89</b>	6	F	2	163	11,7	15,2	Fiebre del Dengue
<b>90</b>	8252	F	8	163	9,9	14,9	Fiebre del Dengue
<b>91</b>	8334	M	9	192	8,4	14,6	Fiebre del Dengue
<b>92</b>	8306	F	70	72	9,5	14,7	Fiebre del Dengue

<b>93</b>	479	F	62	62	9,6	14,9	Fiebre del Dengue
<b>94</b>	40	F	62	196	9	14,6	Fiebre del Dengue
<b>95</b>	16	M	65	178	9,7	14,8	Fiebre del Dengue
<b>96</b>	87	M	90	177	10	15	Fiebre del Dengue
<b>97</b>	8761	M	64	181	9,1	14,7	Fiebre del Dengue
<b>98</b>	8311	F	77	185	9,5	14,7	Fiebre del Dengue
<b>99</b>	8256	F	87	195	8,6	14,7	Fiebre del Dengue
<b>100</b>	8273	F	61	164	8,9	14,6	Fiebre del Dengue
<b>101</b>	8506	F	79	163	9,6	14,8	Fiebre del Dengue
<b>102</b>	8506	F	70	163	9,6	14,8	Fiebre del Dengue
<b>103</b>	8498	F	66	44	10,7	14,7	Fiebre del Dengue
<b>104</b>	8478	F	66	162	11,5	15,5	Fiebre del Dengue
<b>105</b>	8615	M	74	170	9,1	15	Fiebre del Dengue
<b>106</b>	8361	M	35	88	9,9	15,1	CHIK
<b>107</b>	782	M	25	95	12,1	15,5	CHIK
<b>108</b>	78	F	22	132	10	15,3	CHIK
<b>109</b>	8760	M	65	97	8,8	14,9	CHIK
<b>110</b>	8316	M	45	82	9,8	15,1	CHIK
<b>111</b>	78	F	35	66	9,3	15	CHIK
<b>112</b>	8296	M	16	113	9,9	15,2	CHIK
<b>113</b>	8589	F	24	115	9,8	14,9	CHIK
<b>114</b>	98	M	42	141	10,1	15,3	CHIK
<b>115</b>	8647	F	48	142	9,3	15,8	CHIK

**ANEXO N° 2. AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO PARA REALIZAR EL PROYECTO.**



### ANEXO N°3. CONSENTIMIENTO INFORMADO.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO



#### CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

**TEMA:** "DETERMINACIÓN DEL ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA COMO MARCADOR OPORTUNO Y DIFERENCIAL ENTRE FIEBRE DEL DENGUE, FIEBRE DEL DENGUE HEMORRÁGICO Y CHIKUNGUNYA EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL CENTRO DE SALUD TIPO C "UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL" DEL CANTÓN JOYA DE LOS SACHAS"

He leído y he comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que se ha realizado.

Consiento voluntariamente mi participación en esta investigación como paciente voluntario y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que se me afecte de ninguna manera:

Nombre del participante:.....

Edad de participante:.....

Fecha:.....

Firma del representante .....

Numero de cédula .....

Si el paciente es analfabeto.....

Debe firmar un testigo que sepa leer y escribir (si es posible esta persona debería ser seleccionada por el participante).

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y la persona ha tenido la oportunidad de hacer las preguntas.


Confirmo que la persona ha dado el consentimiento para que su representado participe en la presente investigación:

Nombre y firma del testigo: .....

Nombre y firma del investigador: .....

# ANEXO N°4. INSERTO DE DENGUE PÁG. 1.

**Prueba Rápida en casete OnSite Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo (Suero/Plasma/Sangre Total)** Página 1 de 2



**Catálogo Número R0061C**  
**Diagnóstico In vitro**

9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulan muestras o reactivos del kit.
10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes.
12. Los resultados de las pruebas pueden ser leídos 25 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados después de los 25 minutos puede generar resultados erróneos.
13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

---

**USO**

La prueba rápida OnSite Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección y diferenciación simultánea de IgG e IgM anti-virus del Dengue (DEN1, 2, 3 and 4) en suero, plasma o sangre total humana. Este es usado por profesionales como tamizaje y ayuda diagnóstica de infección con el virus del Dengue. Las muestras reactivas con la prueba OnSite Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo deben confirmarse con métodos alternativos.

---

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

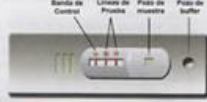
Los virus del Dengue, una familia con cuatro serotipos de (Den 1,2,3,4), de cadena simple, envueltos, de los virus de ARN positivos. Los virus son transmitidos por picadura en el día o la familia Stegomyia, principalmente el Aedes aegypti, y Aedes albopictus. Hoy, más de 2.5 billones de personas que viven en áreas tropicales de Asia, África, Australia, y las Américas están en riesgo de infectarse por Dengue. Se estima que 100 millones de casos de fiebre del dengue y 250,000 casos de dengue hemorrágico mortal ocurren anualmente en el mundo.

La detección serológica es el método más común para el diagnóstico de la infección con el virus del Dengue. La IgM anti-dengue aparece 3 días después de la exposición inicial y permanece en circulación por aproximadamente 30-60 días. Los niveles de IgG anti-dengue virus aumentan a los 7 días, alcanzan su pico de 2-3 semanas, y permanecen toda la vida<sup>14</sup>.

La prueba rápida OnSite Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo utiliza proteínas recombinantes del dengue las cuales reconocen los anticuerpos IgG e IgM de los cuatro serotipos del virus. La prueba es fácil de usar, sin necesidad de equipo de laboratorio engomoso, requiriendo un mínimo de capacitación del personal.

---

**PRINCIPIO DE LA PRUEBA**



La prueba rápida OnSite Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral el cual detecta anticuerpos contra los cuatro serotipos del virus del Dengue. La prueba de casete consiste en: 1) una almohadilla de conjugado de color borgoña que contiene antígenos de la envoltura del dengue recombinante conjugado con oro coloidal (conjugados dengue) y conjugados de IgG-oro de conejo, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene anti IgG humano, banda M está revestida con IgM anti-humano, y la banda C previamente recubiertas con anticuerpo de cabra anti IgG de conejo.

Cuando un volumen adecuado de muestra es dispensada en el pozo de muestra del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si la IgG anti-dengue está presente, se unirá con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgG humana, formando una coloración borgoña indicando presencia de IgG contra el dengue positiva, resultado de resultado que sugiere una infección de dengue secundaria o infección por Dengue anterior. La IgM anti-dengue, si está presente en la muestra, se une con los conjugados del dengue. El inmunocomplejo es capturado por la banda con anti IgM humana, formando una banda color borgoña en la línea M, indicando una IgM positiva contra el dengue, resultado de una infección primaria reciente. Si se colorea la banda G y la M, los resultados sugieren que se trata de una infección primaria y secundaria con el virus del Dengue. La ausencia de las bandas (G y M) sugiere un resultado negativo.

La prueba contiene un control interno (banda C), la cual muestra una coloración borgoña por la formación de un inmunocomplejo de cabra anti IgG de conejo / conjugado IgG- oro de conejo, independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas de prueba (G y M). De lo contrario, el resultado de la prueba no es válida y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

---

**REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

1. Bolsa de aluminio sellada que contiene:
  - a. Un dispositivo de casete
  - b. Un desecante
2. Tubos capilares de 5 µL
3. Diluyente de Muestra (1 vial, 5 mL)
4. Un inserto (instrucciones de uso)

---

**MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN**

1. Reloj o cronómetro
2. Lanceta

---

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

**Para uso de Diagnóstico In Vitro**

1. Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.
2. No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
3. No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
4. Altempere los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos
5. No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
6. No utilice sangre hemolizada para la prueba.
7. Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.
8. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.

---

**PREPARACIÓN DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Los controles positivos y negativos deben mantenerse a 2-8°C. Si se almacena a 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

---

**RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

**Plasma**

1. Recolte la muestra en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.
2. Separe el plasma por centrifugación.
3. Cuidadosamente transfiera el plasma a un tubo nuevo.

**Suero**

1. Recolte por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes)
2. Espere la formación del coágulo.
3. Separe el suero por centrifugación
4. Cuidadosamente transfiera el suero a un tubo nuevo

Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de la muestra. Almacene las muestras de 2°C a 8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables almacenadas de 2° a 8°C durante 5 días. Las muestras pueden congelarse a -20°C para almacenamientos prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Antes del ensayo, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles, deben ser eliminadas por centrifugación antes de la prueba. No use muestras con altas proteínas, hemolisis o turbidez ya que pueden interferir en la interpretación de los resultados.

**Sangre**

Las gotas de sangre pueden obtenerse por punción digital o venopunción. No use sangre hemolizada para realizar la prueba.

Las muestras de sangre total se pueden almacenar en (2°C-8°C) si no va a ser procesada la muestra inmediatamente. Debe hacerse la prueba antes de cumplir 24 horas después de la recolección.

---

**PROCESAMIENTO**

**Paso 1:** Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelada.


**Paso 2:** Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.

**Paso 3:** Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

**Paso 4:** Llene el tubo capilar con el suero, plasma o sangre, no exceda la línea de muestra como se muestra en la imagen. El volumen es aprox 5µL. **Para mayor precisión, transfiera la muestra con una pipeta que de exacto el volumen.**

Con el tubo capilar en posición vertical, dispense la muestra en el centro del pozo de muestra (pozo 5) asegurándose de que no hayan burbujas de aire.

Immediately agregar 3 gotas (aprox. 110-130 µL) de Diluyente de Muestra en el pozo de Buffer (pozo 8).



**Resultado**

25 minutos

5 µL de muestra en el pozo 5      3 gotas de Diluyente de Muestra en el pozo 8

**Paso 5:** Contabilice el tiempo.

**Paso 6:** Lea los resultados en 25 minutos.

**No lea los resultados después de 25 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.**



# ANEXO N° 5. INSERTO DE DENGUE PÁG. 2.

## Prueba Rápida en casete *OnSite* Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo (Suero/Plasma/Sangre Total) Página 2 de 2

### CONTROL DE CALIDAD

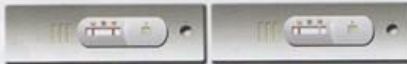
- Control Interno:** Esta prueba contiene un control incluido, la banda C, esta se desarrolla después de adicionar la muestra. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.
- Control Externo:** las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:
  - Cuando un Nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
  - Cuando se inicia un nuevo kit.
  - Un nuevo envío de kits es utilizado.
  - Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2°C -30°C.
  - La temperatura del sitio de procesamiento está por fuera de 15°C -30°C.
  - Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
  - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

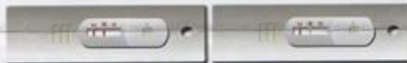
- RESULTADO NEGATIVO:** Si solo se colorea la banda C, hay ausencia de las bandas G y M indica que no hay anticuerpos anti- dengue en la muestra. El resultado es Negativo o no-reactivo.



- RESULTADO POSITIVO:**
  - Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda G, el resultado indica la presencia de IgG anti-dengue; el resultado es IgG positiva o reactiva, sugiriendo etapa primaria tardía, secundaria o principios de la infección.



- Además de la presencia de la banda C, si se colorea la banda M, el resultado indica la presencia de IgM anti-dengue; el resultado es IgM positiva o reactiva, sugiriendo una infección primaria por el virus del dengue.

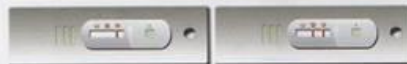


- Además de la presencia de la banda C, tanto la banda G como la M se colorean, la prueba indica la presencia de IgG e IgM anti-dengue. El resultado es IgG e IgM positiva o reactiva, señalando una infección por el virus del dengue primaria o secundaria temprana.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmados con métodos alternativos y junto con la anatomía clínica antes de hacer una determinación diagnóstica.

- INVALIDO:** Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### 1. Rendimiento Clínico para la prueba IgM

Un total de 314 muestras de pacientes susceptibles fueron evaluados con la Prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo y un EIA de Referencia. La comparación se observa en la siguiente tabla:

IgM EIA Test	Prueba Rápida <i>OnSite</i> Dengue IgG/IgM <sup>3.0</sup> Combo		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	31	1	32
Negativo	3	279	282
Total	34	280	314

Sensibilidad Relativa: 96.9% , Especificidad Relativa: 98.9%, Concordancia: 98.7%

#### 2. Rendimiento Clínico para la prueba IgG

Un total de 320 muestras de pacientes susceptibles fueron probadas con la prueba rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo con una prueba de EIA como referencia. La comparación se encuentra en la siguiente tabla:

IgG EIA Test	Prueba Rápida <i>OnSite</i> Dengue IgG/IgM <sup>3.0</sup> Combo		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	36	1	37
Negativo	2	287	289
Total	38	288	326

Sensibilidad Relativa: 97.3% , Especificidad Relativa: 99.3%, Concordancia: 99.1%

### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- El procedimiento de la prueba y la interpretación de los resultados debe ser analizada cuando se detectan anticuerpos contra el dengue en suero, plasma o sangre total. Cualquier falla en el procedimiento puede llevar a resultados erróneos.
- La prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo se limita a la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus del Dengue en suero, plasma o sangre total humana. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación con el título de anticuerpos en la muestra.
- La información de los serotipos del dengue no es proporcionado con este examen.
- La prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo no se puede usar para diferenciar infección primaria de la secundaria.
- La reactividad cruzada con otros flavivirus es común (ej. Encefalitis japonesa, Virus del Nilo, Fiebre amarilla, etc) por lo tanto, es posible que los pacientes infectados con estos virus muestren cierto grado de reactividad con esta prueba.
- Un resultado negativo o no-reactivo indica la ausencia de anticuerpos detectables del virus del dengue. Sin embargo los resultados no concluyen la posibilidad de la exposición o infección con el virus.
- Un resultado negativo o no-reactivo puede ocurrir si la cantidad de anticuerpos contra el dengue presentes en la muestra son menores al límite de detección de la prueba, o los anticuerpos detectados no están presentes en el estado de la infección cuando es recolectada la muestra.
- Algunas muestras contienen anticuerpos heterófilos o factor reumatoideo lo cual puede afectar los resultados.
- Si los síntomas persisten y la prueba Rápida *OnSite* Dengue IgG/IgM<sup>3.0</sup> Combo da resultado negativo o no-reactivo, es recomendable tomar una nueva muestra días después o usar algún método diagnóstico alternativo.
- Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la historia clínica del paciente.

### REFERENCIAS

- Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever. The emergence of a global health problem. *Emerg Infect Dis* 1995;1(2):55-57.
- Gubler DJ, Tiersi DW. Emergencia de epidemias dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infect Agents Dis* 1994;2:383-393
- Monath TP. Dengue: The risk to developed and developing countries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984;91:2395-2400.
- Price DD, Wilson SR. Dengue Fever, e-medicine, <http://www.emedicine.com/EMERG/topic124.htm>, Jan, 2002.
- Innis BL, and Naatak A, et al: An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am. J. Trop. Med. Hygiene*. 1989; 42: 418-427.
- Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1997.

### Índice de Símbolos

Consulte las instrucciones de uso	Para uso diagnóstico in vitro únicamente	Utilice por
REF Catálogo número	LOT Número de Lote	Pruebas por kit
Almacenar de 2 a 30°C	Representante Autorizado	No reutilizar
Fabricante	Fecha de fabricación	

**CTK Biotech, Inc.**  
10110 Mesa Rim Road  
San Diego, CA 92121, USA  
Tel: 858-457-8698  
Fax: 858-551-1730  
E-mail: [info@ctkbiochem.com](mailto:info@ctkbiochem.com)


**EC REP MIDSS GmbH**  
Schiffgraben 41, 30175 Hannover, Germany  
Tel.: (+49)-511-6262 8630

PI-R0061C-Spanish Rev. 1  
Efectivo date: 2013-03-25  
Versión en Español

For Export Only, Not For Re-sale in the USA

# ANEXO N°6. INSERTO DE CHIKUNGUNYA PÁG. 1.

Prueba Rápida en casete **OnSite Chikungunya IgM Combo (Suero / Plasma / Sangre Total)** Página 1 de 2



**REF**  
Catálogo Número R0066C  
**IVD**  
Diagnóstico In vitro



---

**USO**

La prueba rápida OnSite Chikungunya IgM Combo es un inmunoensayo de cromatografía lateral para la detección cualitativa de la IgM anti-virus chikungunya (CHIK) en suero, plasma o sangre total humana. Esto es empleado para el tamizaje y ayuda diagnóstica de infección con CHIK. Cualquier muestra que de un resultado reactivo con la prueba rápida OnSite Chikungunya IgM Combo debe ser confirmada con métodos alternativos y la sintomatología clínica.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

Chikungunya es una rara infección viral transmitida por la picadura de un mosquito *Aedes aegypti* infectado. Esta se caracteriza por salpullido, fiebre, y dolor severo de las articulaciones (artralgias) que por lo general tiene una duración de tres a siete días. A diferencia del dengue, las manifestaciones hemorrágicas son relativamente poco frecuentes y con mayor frecuencia la enfermedad se limita al cuadro febril. Por lo tanto es muy importante distinguir clínicamente dengue de la infección por CHIK.

Los síntomas son clínicamente indistinguibles de los observados en la fiebre del dengue. En efecto, la infección dual de dengue y chikungunya se ha informado en India<sup>2</sup>. A diferencia del dengue, las manifestaciones hemorrágicas son relativamente poco frecuentes y con mayor frecuencia la enfermedad se limita al cuadro febril. Por lo tanto es muy importante distinguir clínicamente dengue de la infección por CHIK.

El diagnóstico de CHIK se basa en el análisis serológico y el aislamiento en ratones o cultivos de tejidos. El inmunoensayo de IgM es la prueba de laboratorio más empleada<sup>3</sup>.

La prueba rápida OnSite Chikungunya IgM Combo utiliza antígenos recombinantes derivados de la estructura proteica<sup>4</sup>, esta detecta la IgM anti-CHIK en el suero o plasma de los pacientes en 15 minutos. La prueba es fácil de usar, sin necesidad de equipo de laboratorio engoroso, requiriendo un mínimo de capacitación del personal.

**PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba rápida OnSite Chikungunya IgM Combo es un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral. La prueba del casete consiste en: 1) una almohadilla con conjugado coloreado de borfoya que contiene antígenos CHIK conjugados con oro coloidal (conjugados CHIK) y conjugados de conejo IgG-oro, 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene la banda de prueba (banda T) y la de control (banda C). La banda T está pre-recubierta con IgM anti-humana reactiva, y la banda C está pre-recubierta con anticuerpos de cabra anti-IgG de conejo.

Identificación de la muestra



Cuando se adiciona un volumen adecuado de muestra al pozo de muestra del casete, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Los anticuerpos IgM contra CHIK, si están presentes en la muestra se unen con los conjugados CHIK. El inmunocomplejo es capturado en la membrana por la anti-IgM humana pre-recubierta, formando una coloración borfoya en la banda T, indicando un resultado positivo para IgM contra CHIK.

La ausencia de la banda T indica un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (banda C), la cual muestra una coloración borfoya por la formación de un inmunocomplejo de cabra anti IgG de conejo / conjugado IgG-oro de conejo, que se forma independientemente de la banda T. Si no se colorea, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

**REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

- Bolsas de aluminio selladas que contiene:
  - Un dispositivo de casete
  - Un desecante
- Góteros de plástico
- Diluyente de muestra (1 vial, 3 mL)
- Un inserto (instrucciones de uso)

**MATERIALES QUE PUEDEN SER REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN**

- Control Positivo
- Control Negativo

**MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS**

- Reloj o cronómetro

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

**Para uso de Diagnóstico In Vitro**

- Este inserto debe ser leído completamente antes de la realización de la prueba. Si no se sigue el inserto se pueden generar resultados erróneos.
- No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atempera los reactivos de 15°C a 30°C antes de usarlos
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
- No utilice sangre hemolizada para la prueba.
- Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.

6. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos para la prevención de transmisión del VIH, VHB y otros patógenos de transmisión sanguínea.

9. No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.

10. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.

11. Manipule los controles positivos y negativos de la misma forma como a las muestras de los pacientes

12. Los resultados de las pruebas pueden ser leídos 25 minutos después de agregar la muestra al pozo de muestra. Leer los resultados después de los 25 minutos puede generar resultados erróneos.

13. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

**PREPARACIÓN DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO**

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2°C - 30°C. Los controles positivos y negativos deben mantenerse 2°C - 8°C. Si se almacena de 2°C - 8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleve a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

**RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LA MUESTRA**

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipúelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

**Plasma**  
Paso 1: Recolte la muestra en un tubo tapa lila, azul o verde (que contenga EDTA, Citrato o Heparina) por venopunción.  
Paso 2: Separe el plasma por centrifugación.  
Paso 3: Cuidadosamente transfiera el plasma a un tubo nuevo.

**Suero**  
Paso 1: Recolte por venopunción la muestra en un tubo tapa roja (sin anticoagulantes).  
Paso 2: Espere la formación del coágulo.  
Paso 3: Separe el suero por centrifugación.  
Paso 4: Cuidadosamente transfiera el suero a un tubo nuevo.

Procesar las pruebas lo más pronto posible a la toma de la muestra. Almacene las muestras de 2°C a 8°C si no se van a procesar inmediatamente. Las muestras son estables almacenadas de 2°C a 8°C durante 5 días. Las muestras pueden congelarse a -20°C para almacenamientos prolongados.

Evite múltiples ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Antes del ensayo, lleve las muestras congeladas a temperatura ambiente lentamente y mezcle con suavidad. Las muestras que contengan partículas visibles, deben ser eliminadas por centrifugación antes de la prueba.

No use muestras con altas lipemias, hemólisis o turbidez ya que pueden generar interferencias en la interpretación de resultados.

**Sangre**  
Las gotas de sangre pueden obtenerse por punción digital o venopunción. No use sangre hemolizada para realizar la prueba.

Las muestra de sangre total se pueden almacenar en (2°C - 8°C) si no va a ser procesada la muestra inmediatamente. Debe hacerse la prueba antes de cumplir 24 horas después de la recolección.

**PROCESAMIENTO**

Paso 1: Lleve las muestras y componentes del ensayo a temperatura ambiente si es refrigerada o congelada. Mezcle bien la muestra antes del ensayo una vez descongelado.

Paso 2: Cuando esté preparado para realizar la prueba, abra el empaque y saque el dispositivo. Colóquelo sobre una superficie limpia y plana.

Paso 3: Asegúrese de marcar el dispositivo con la identificación del paciente.

Paso 4: Llene el gotero con la muestra.  
Con el gotero en posición vertical, dispense 1 gota (aprox 30-45 µL) de suero/plasma o 1 gota de sangre total (aprox 40-60 µL) en el pozo de muestra asegurándose de que no hayan burbujas.  
Inmediatamente agregue 1 gota (aprox. 35-50 µL) de Diluyente de muestra.



1 gota de muestra      1 gota de diluyente de muestra

Paso 5: Contabilice el tiempo.

Paso 6: Los resultados deben ser leídos pasados 15 minutos. Los resultados positivos son visibles al minuto.

**No lea los resultados después de 15 minutos. Para evitar confusiones descarte el casete después de leer el resultado.**



## ANEXO N°7. INSERTO DE CHIKUNGUNYA PÁG. 2.

**Prueba Rápida en casete *OnSite* Chikungunya IgM Combo (Suero / Plasma / Sangre Total)** Página 2 de 2

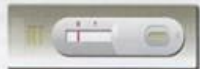
---

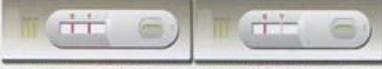
### CONTROL DE CALIDAD

- Control Interno:** Esta prueba contiene un control incluido; la banda C, esta se desarrolla después de adicionar la muestra y diluyente de muestra. De lo contrario, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo dispositivo.
- Control Externo:** las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, positivos y negativos, para asegurar el funcionamiento adecuado de la prueba, particularmente en las siguientes circunstancias:
  - Cuando un Nuevo operador utiliza el kit, antes de que procese las muestras.
  - Cuando se inicia un nuevo kit.
  - Un nuevo envío de kits es utilizado.
  - Cuando la temperatura de almacenamiento se sale del rango de 2°C - 30°C.
  - La temperatura del sitio de procesamiento está por fuera de 15°C - 30°C.
  - Para verificar una frecuencia mayor que la esperada de los resultados positivos o negativos.
  - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

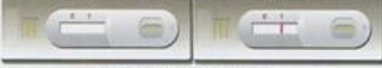
### INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- RESULTADO NEGATIVO:** Si solo la banda C se colorea, la prueba indica que no hay IgM anti-CHIK detectable presente en la muestra. El resultado es negativo.
 


- RESULTADO POSITIVO:** si ambas bandas (C y T) se colorean, la prueba indica la presencia de IgM anti-CHIK en la muestra. El resultado es positivo.
 



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos alternativos y ante con la sintomatología clínica antes de hacer una determinación diagnóstica.
- INVALIDO:** Si la banda C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que las otras bandas se tñan. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.
 



### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Un estudio se llevó a cabo en la Unidad de Virología, Instituto de Medicina del Servicio de Salud Tropical de los Ejércitos, Ministerio De La Defensa, Francia.

La evaluación del panel de muestras consistió en 72 muestras de infectados recientes diagnosticados por el MAC-ELISA y 21 muestras con infección por otros arbovirus, 3 con infección O'nyong nyong, y 8 negativas para todas las pruebas. Los datos de la evaluación se observan en la siguiente tabla.

MAC-ELISA	Prueba Rápida <i>OnSite</i> Chikungunya IgM		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	65	7	72
Negativo	0	21**	21
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>28</b>	<b>93</b>

Sensibilidad Relativa: 90.3% , Especificidad Relativa: 100%, Concordancia: 92.4%











### LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- El procedimiento de la prueba y la interpretación de los resultados debe ser analizada cuando se detecta la IgM anti-CHIK en suero, plasma o sangre total. Cualquier falla en el procedimiento puede llevar a resultados erróneos.
- La prueba rápida *OnSite* Chikungunya IgM Combo se limita a la detección cualitativa de IgM anti-CHIK en suero, plasma o sangre total humana. La intensidad de la banda de prueba no tiene correlación con el título de anticuerpos en la muestra.
- Un resultado negativo en un paciente indica la ausencia de IgM anti-CHIK detectable. Sin embargo, esto no excluye la posibilidad de exposición o infección con CHIK.
- Un resultado negativo puede darse si la cantidad de IgM anti-CHIK presente en la muestra es menor al límite de detección de la prueba, o los anticuerpos no están presentes en el estado de la infección cuando es recolectada la muestra.
- Algunas muestras contienen anticuerpos heterófilos o factor reumatoideo lo cual puede afectar los resultados.
- Los resultados obtenidos deben ser interpretados junto con otros métodos diagnósticos y la historia clínica del paciente.

### REFERENCIAS

- Shah KV, Gibbs CJ Jr, Banerjee G. Virological investigation of the epidemic of haemorrhagic fever in Calcutta: isolation of three strains of Chikungunya virus. *Indian J Med Res* 1964; 52: 676-83.
- Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC. Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. *J Gen Virol* 2000;81:471-9.
- Myers RM and Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. *Science* 1967;157:1307-8.
- Thein S, Li Linn M, Assakov J, Aung MM, Aye M, Zaw A, Myint A. Development of a simple indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of immunoglobulin M antibody in serum from patients following an outbreak of chikungunya virus infection in Yangon, Myanmar. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1992;86:438-42.
- Yamamoto K, Hashimoto K, Ogata T. Structural proteins of Chikungunya virus. *Simizu B, J Virol*. 1984 Jul;51(1):254-8.

### Índice de Símbolos

 Consulte las instrucciones de uso	 Para uso diagnóstico in vitro únicamente	 Utilice por Pruebas por kit
 Catálogo número	 Número de Lote	 No reutilizar
 Almacenar de 2 a 30°C	 Representante Autorizado	
 Fabricante	 Fecha de fabricación	

**CTK Biotech, Inc.**  
10110 Mesa Rim Road  
San Diego, CA 92121, USA  
Tel: 858-451-8696  
Fax: 858-535-1739  
E-mail: info@ctkbiotech.com

**EC REP** MDSS GmbH  
Schiffgraben 41, 30175 Hannover, Germany

PI-R0066C-Spanish Rev. D  
Effective date: 2013-06-04  
Versión en Español

*For Export Only, Not For Re-sale In the USA*

**ANEXO N°8. FOTOGRAFÍAS**

**FOTOGRAFÍA N°1. CENTRO DE SALUD TIPO C “UNIDAD MÉDICA ASISTENCIAL”**



**FOTOGRAFÍA N° 2. FIRMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.**



**FOTOGRAFÍA N° 3. TOMA DE MUESTRA**

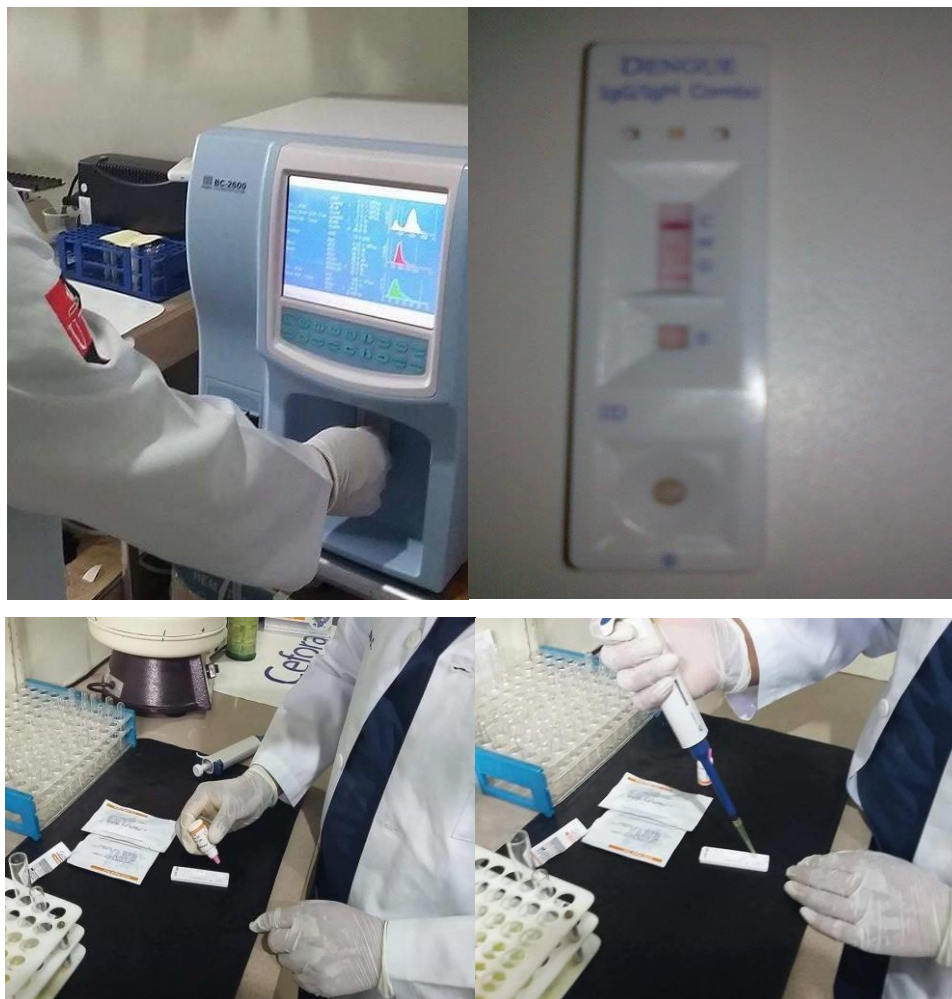


**FOTOGRAFÍA N° 4. PRUEBAS RÁPIDAS PARA FIEBRE DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA**





**FOTOGRAFÍA N° 5. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.**



**FOTOGRAFÍA N°6. LECTURA E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.**



**FOTOGRAFÍA N° 7. CONTROLES DE EQUIPO HEMATOLÓGICO.**

