



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

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA
EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE
DENGUE”**

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

Autora: Guerrero Fuentes, Mayra Alexandra.

Tutor: MD. Cárdenas Ponce, Jorge Luis.

Ambato – Ecuador

Diciembre 2016

APROBACIÓN DEL TUTOR

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

“DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE DENGUE” de **Mayra Alexandra Guerrero Fuentes** 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 Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Agosto del 2016

EL TUTOR

.....

MD. Cárdenas Ponce, Jorge Luis

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Informe de Investigación “**DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE DENGUE**” como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora del trabajo de grado.

Ambato, Agosto del 2016

LA AUTORA

.....

Guerrero Fuentes, Mayra Alexandra

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

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

Ambato, Agosto del 2016

LA AUTORA

.....

Guerrero Fuentes, Mayra Alexandra

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema **“DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE DENGUE”** de **Mayra Alexandra Guerrero Fuentes**, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico

Ambato, Diciembre del 2016

Para constancia firman

.....

PRESIDENTE/A

.....

1^{ER} VOCAL

.....

2^{DO} VOCAL

DEDICATORIA:

Por todo el apoyo incondicional sus consejos y aliento diario en todo el transcurso de mi carrera dedico este trabajo de investigación a toda mi familia y seres queridos en especial a mis padres ya que gracias a su apoyo incondicional he podido cumplir un sueño más de muchos que estarán por venir.

Guerrero Fuentes Mayra Alexandra

AGRADECIMIENTO:

Al estar en unos de los momentos más importantes de mi vida como es concluir mi carrera universitaria no me queda más que agradecer en primer lugar a Dios que me supo dar sabiduría y entendimiento para forjar mi destino universitario, a mis padres y hermanos quienes a pesar de no haber compartido conmigo durante el transcurso de mi carrera día a día supieron iluminar mi mente con palabras sabias para nunca rendirme e incluso en los momentos más difíciles, a mis abuelitos por su compañía, paciencia y por acogerme en su casa durante este periodo.

Como no agradecer también a mis tíos y demás familiares que de alguna u otra manera me incentivaron a continuar con este sueño recordándome siempre que todo esfuerzo al final del camino tiene su recompensa.

A mi enamorado que a pesar de la distancia me acompañó en todo momento difícil dándome amor y paciencia para cumplir con mi objetivo.

A mis amigos a quienes conocí en esta gran institución en el transcurso de cada semestre, llegando así a formar grandes amistades que jamás olvidare y que sabré conservar cada día de mi vida.

Quisiera agradecer sobre todo a mis maestros y tutor Doctor Jorge Luis Cárdenas Ponce por la sabiduría y enseñanzas que me transmitieron a lo largo de mis años de esfuerzo y dedicación para superarme como una buena profesional.

Guerrero Fuentes Mayra Alexandra

ÍNDICE GENERAL

HOJAS PRELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA:	vi
AGRADECIMIENTO:	vii
RESUMEN EJECUTIVO	x
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. EL PROBLEMA	2
1.1. TEMA:	2
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	2
1.2.1. CONTEXTO:	2
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:	5
1.4. JUSTIFICACIÓN:	6
1.5. OBJETIVOS:	7
1.5.1. OBJETIVO GENERAL:	7
1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	7

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	8
2.1. ESTADO DE ARTE:	8
2.2. MARCO TEÓRICO:	9
VIRUS DEL DENGUE	9
ORIGEN Y EPIDEMIOLOGÍA:	9
DEFINICION Y ESTRUCTURA DEL VIRUS:	11

CLASIFICACIÓN:	11
ETIOPATOGENIA:	12
RESPUESTAS INMUNES DEL HUÉSPED A DENV:	14
DIAGNÓSTICO:.....	15
FASE FEBRIL.....	16
FASE CRÍTICA.....	17
FASE DE RECUPERACIÓN.....	18
LAS PLAQUETAS EN EL DENGUE:	20
EL ANCHO DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN EL DENGUE:	22
2.3 HIPÓTESIS	22
2.3.1 Hipótesis nula	22
2.3.2 Hipótesis alternativa	23

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO	24
3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:	24
3.2. POBLACIÓN:.....	24
3.2.1. DISEÑO MUESTRAL:	24
CRITERIOS DE INCLUSIÓN:.....	24
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:.....	25
3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:	26
3.4. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN:	30
3.5. ASPECTOS ÉTICOS:	33

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.2. CONCLUSIONES:.....	45

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

**“DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA
EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE
DENGUE”**

Autora: Guerrero Fuentes, Mayra Alexandra

Tutor: MD. Cárdenas Ponce, Jorge Luis.

Fecha: Agosto del 2016

RESUMEN

El dengue es una enfermedad viral transmitida por mosquitos con mayor rapidez de propagación en el mundo. La fiebre del dengue (DF), con sus manifestaciones graves como la fiebre hemorrágica del dengue (FHD) y el síndrome de choque del dengue (DSS) se ha convertido en un importante problema de salud pública nacional e internacional. La trombocitopenia y hemorragia son complicaciones comunes de la fiebre dengue, por lo tanto, además de los recuentos de plaquetas, existe la necesidad de evaluar el volumen medio de las mismas, para determinar la curva de distribución plaquetaria en pacientes con dengue y su relación con el tipo de dengue, el presente estudio se realizó en el Hospital Básico IESS Ancón ubicado en la Provincia de Santa Elena con la finalidad de encontrar un factor predictivo que ayude para el diagnóstico de la enfermedad, es así como se toma en cuenta a la curva de distribución plaquetaria para la identificación del virus. Se realizaron los análisis a 171 pacientes con y sin la enfermedad, donde se observó que el plateletcrit es un marcador oportuno que ayuda con el diagnóstico de esta patología, un valor $<0,19$ tiene más probabilidades que un paciente tenga dengue hemorrágico.

PALABRAS CLAVES: PLATELETCRIT, DENGUE_FEBRIL,
DENGUE_HEMORRAGICO, AEDES_AEGYPTI.

**UNIVERSITY TECHNICAL OF AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CAREER OF CLINICAL LABORATORY**

**“DETERMINATION OF THE PLATELET DISTRIBUTION CURVE IN
PATIENTS WITH DENGUE AND ITS RELATIONSHIP WITH THE TYPE
OF DENGUE”**

Author: Guerrero Fuentes Mayra Alexandra.

Tutor: MD. Cárdenas Ponce, Jorge Luis.

Date: August 2016

SUMMARY

Dengue fever is a viral illness transmitted by mosquitoes more quickly spread worldwide. The dengue fever (DF), with their severe manifestations as the hemorrhagic fever of dengue (DHF) and dengue (DSS) shock syndrome has become a major national and international public health problem. Thrombocytopenia and hemorrhage are common dengue fever complications, therefore, in addition to platelet counts, there is a need to evaluate the average volume of the same, to determine the platelet in patients with dengue distribution curve and its relation with the type of dengue, the present study was conducted in the IESS Ancon basic Hospital located in the province of Santa Elena in order to find a predictive factor that will help for the diagnosis of the disease, is as well as is takes on has to the curve of distribution platelet for the identification of the virus. Analyses were performed to 171 patients with and without the disease, where it was noted that the plateletcrit is a timely marker that helps with the diagnosis of this pathology, a value $<0,19$ is more likely that a patient has dengue hemorrhagic fever.

KEYWORDS: PLATELETCRIT, DENGUE_ FEVER,
DENGUE_HEMORRHAGIC, AEDES_ AEGYPTI.

INTRODUCCIÓN

El dengue es una enfermedad infecciosa altamente endémica de los países tropicales y se está convirtiendo rápidamente en una carga global. Es causada por cualquiera de los 4 serotipos del virus del dengue y se transmite a los humanos a través de mosquitos Aedes hembra. La enfermedad del dengue varía de su forma más leve con presencia de fiebre a condiciones severas como dengue hemorrágico.

La globalización, el aumento de los viajes aéreos, y la urbanización no planificada han llevado al aumento en la tasa de infección del dengue ayudando a ampliar su distribución geográfica y demográfica. El desarrollo de vacunas en contra del Dengue ha sido una tarea desafiante debido a la existencia de cuatro serotipos del virus del dengue antigénicamente distinto, cada una capaz de provocar la respuesta de anticuerpos de reacción cruzada y para mejorar la enfermedad contra los tres serotipos restantes.

Esta patología es una amenaza emergente para millones de personas en todo el mundo. En los últimos 20 años, la incidencia ha aumentado cuatro veces y esta tendencia parece continuar, puede presentarse como una amplia gama de fenotipos clínicos como la coagulopatía y la falla multi orgánica.

La patogénesis de la enfermedad grave se cree que es en parte mediada de una manera inmune, pero los mecanismos exactos aún no se han definido. El tratamiento actual del dengue se basa en medidas de soporte sin la terapéutica antiviral disponibles hasta la fecha. Ha habido recientes avances en el conocimiento de una serie de áreas de investigación del dengue, es por aquella razón que se requiere de estudios acerca del diagnóstico temprano.

El presente estudio aborda un índice hemático denominado curva de distribución plaquetaria que figura como una alternativa para el diagnóstico del tipo de dengue y su valor predictivo para la gravedad de la enfermedad.

CAPÍTULO I

1. EL PROBLEMA

1.1. TEMA:

“DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACIÓN CON EL TIPO DE DENGUE”

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

1.2.1. CONTEXTO:

El dengue ha surgido en las últimas dos décadas como la infección viral transmitida por vectores más abundante en todo el mundo. El virus del dengue pertenece a la familia Flavivirus y tiene cuatro serotipos (DENV1-4), que son clínicamente indistinguibles. Las últimas estimaciones sugieren 390 millones de infecciones de dengue cada año, de los cuales 100 millones terminaron en la enfermedad sintomática. (1)

Este virus se puede presentar como un espectro de síndrome clínico de fiebre, es decir una enfermedad febril inespecífica. (2)

En los últimos 30 años, se ha producido una enorme expansión de la transmisión del dengue, y en la actualidad es endémica en más de 100 países (2). Más del 70% de la carga mundial se encuentra en el sur y sudeste de Asia, pero más recientemente los números de casos han explotado en otras partes de Asia, América Latina y el Caribe. Aunque más difícil de cuantificar, el continente africano también ha sido testigo de un aumento significativo de casos, con brotes notificados a partir de un número de países del Este y de África Occidental (3) (4).

Esta enfermedad es conocida como un problema de salud grave en los países tropicales y subtropicales que pone en peligro más de la mitad de la población mundial. Trescientos noventa millones de infecciones de dengue se estima que se producen cada año, y de que, 96 millones son suficientemente graves para los pacientes que buscan atención médica (1). La carga de casos de dengue y el número de países que notifican brotes han aumentado 10 veces en los últimos 30 años (5). Es endémica en África, las Américas, el Mediterráneo Oriental, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental.

El Sudeste de Asia y el Pacífico Occidental son las zonas más afectadas con la antigua región que aporta 52% de los casos al año (6). En consecuencia, el dengue es una carga económica significativa de la salud y lo social en las poblaciones de zonas endémicas. Una reciente encuesta realizada en 12 países de la región del sudeste asiático reveló una carga económica anual de cerca de 1 mil millones de dólares incurridos debido al dengue (7).

También se ha observado en los últimos años que los países desarrollados están en riesgo, los pequeños brotes se declaran con más frecuencia al sur de Europa, los EE.UU., y el norte de Australia. En 2012, Europa experimentó su primera epidemia de dengue desde la década de 1920 cuando se registraron más de 2.000 casos y 120 ingresos hospitalarios de la isla portuguesa de Madeira (5). El origen de este brote fue muy probablemente de un viajero con viremia desde Venezuela, teniendo en cuenta el volumen de los viajes a Madeira de países endémicos de dengue, la estacionalidad en estos países, así como los virus genéticamente similares que circulan en Venezuela en el momento del brote (6). Un similar, aunque más pequeño brote se produjo en Japón en 2014, se pensó de nuevo que fue implicado un viajero pero la propagación fue autóctona de Tokio (7).

En el Ecuador se considera actualmente como un país determinante para el incremento del virus del dengue tomando en cuenta las condiciones climáticas y

elevación de temperatura extendidas en mayo del 2015, donde se ha presentado 17.824 casos dos de ellos letales en Orellana y Babahoyo (8).

Según la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica el virus del dengue se ha confirmado en 6.849 casos en el 2014, para disminuir el número de casos en este año se plantean estrategias capacitando a profesionales de salud (9).

Entre enero y el 27 de diciembre del 2014 hubo 15 446 casos de dengue; un aumento del 13,32% en comparación con el mismo periodo de 2013, siendo los casos más relevantes en Guayas, Santa Elena, Babahoyo, Orellana (10).

Se ha confirmado que el virus se ha desplazado a zonas en donde no era común. Por ejemplo en Lita, en Ibarra (Imbabura). Ahí, el 2010 se registraron por primera vez casos de dengue (10).

En la Provincia del Guayas realizando un análisis comparativo de incidencia de casos de dengue en el año 2013 hubo un total de 1.934 y en el año 2014 se obtuvo un total de 3.461, con un incremento durante este año de 1.527 casos que representa un 44% (11).

Realizando un comparativo desde la semana epidemiológica 10 al 26 durante el año 2013 hubo 1.933 casos y en el año 2014 un total de 2.892, con un incremento de 959 casos lo que representa un 33% (11).

Son 166 casos confirmados de dengue clásico que corresponden a Guayaquil, Durán y Samborondón. El incremento de pacientes se debe a la llegada de la temporada invernal, las aguas estancadas y el cambio de clima (12).

En general, se cree que los impulsores de la expansión global de la enfermedad deben incluir determinados factores tanto del vector y del huésped, incluyendo la adaptación urbana del mosquito vector *Aedes*, la globalización, y la proliferación de los criaderos a través de la rápida urbanización y, a menudo mal planificado de las ciudades (13). Otros factores sugeridos incluyen el cambio climático y el aumento de la movilidad de la población y el transporte aéreo (14) (15).

Las características clínicas de la infección por dengue, durante su fase aguda y convaleciente, son bastante inespecíficas e imitan muchas otras enfermedades. Por lo tanto, podría ser mal interpretado fácilmente. Además, no hay tratamiento específico disponible para esta enfermedad. Por lo cual, el diagnóstico de laboratorio preciso es muy útil en el control de esta enfermedad (16).

Un diagnóstico temprano ayuda en el manejo del paciente y la pronta aplicación inmediata de las medidas de control de vectores adecuados que a su vez ayuda a prevenir la propagación de la infección. Además, los diagnósticos proporcionan datos clave sobre la epidemiología y la carga en la salud producida por el dengue, que es muy útil para la vigilancia de la salud pública (17). En la actualidad, se han desarrollado ensayos o pruebas de diagnóstico rápido (PDR), están disponibles y se utilizan en los laboratorios de diagnóstico rutinario. Sin embargo, la selección de una prueba apropiada depende de varios factores como el período de viremia y el estado de infección (primaria o secundaria); También no existe un marcador biológico que aporte en la predicción de la evolución del cuadro, es por aquello que el presente estudio se enmarcó la correlación de un índice hemático con la probabilidad de un cuadro grave.

1.3.FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

- ¿La curva de distribución plaquetaria en pacientes con dengue tiene relación con el tipo de dengue o su evolución?

- ¿Cómo se encuentra la curva de distribución plaquetaria o Plateletcrit en los pacientes con dengue?
- ¿Se relaciona la curva de distribución plaquetaria o plateletcrit con el tipo de dengue?

1.4.JUSTIFICACIÓN:

Varias pruebas de laboratorio están disponibles para el diagnóstico de dengue. La confirmación se podría hacer a través de aislamiento del virus, la amplificación del genoma, así como la detección del antígeno y anticuerpo a través de la serología, pero ninguna prueba nos predice que tan grave puede ser el cuadro.

Las manifestaciones clínicas del dengue inicialmente no son muy buenos predictores de la posible gravedad de la enfermedad y por lo tanto gran parte del reciente enfoque en la investigación es la identificación de biomarcadores que predigan la enfermedad grave en los pacientes. Los estudios inmunológicos han evaluado el papel de las citocinas tales como IFN- γ , IL-6 y IL-8 en casi todas las enfermedades, pero no existen estudios adecuados sobre las propiedades de estas citosinas en el dengue, y otra dificultad es que se necesita de un laboratorio de mediana sofisticación y el costo se eleva al realizar estas pruebas.

El análisis seriado de la formula hemática en el dengue es parte del protocolo pero no se ha explotado los índices hemáticos en la enfermedad, ello puede tener un valor predictores de severidad al relacionarlo adecuadamente mediante un estudio metodológicamente apropiado. El análisis de la curva de distribución y el análisis comparativo de dicho índice en los pacientes puede ser la nueva vía en curso de la investigación en dengue que podría arrojar luz para tener predictores robustos para una enfermedad grave en el futuro. El estudio de las plaquetas tendría un impacto sustancial en la reducción de la mortalidad y la morbilidad asociada con dengue. Por lo tanto, el presente estudio se plantea analizar el ancho de la curva de distribución

plaquetaria en la enfermedad del dengue y la correlación de la misma con el curso clínico.

1.5.OBJETIVOS:

1.5.1. OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la curva de distribución plaquetaria en pacientes con dengue y su relación con el tipo de dengue.

1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analizar las muestras de dengue mediante detección de anticuerpos y niveles plaquetarios de la población que asiste al Hospital Básico IESS Ancón ubicado en la provincia de Santa Elena.
- Determinar la curva de distribución plaquetaria o Plateletcrit en los pacientes con y sin dengue.
- Correlacionar la curva de distribución plaquetaria o Plateletcrit con el tipo de dengue.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ESTADO DE ARTE:

La gravedad de la enfermedad está determinada por varios factores de riesgo como la edad, la enfermedad preexistente, serotipo infectante, y la infección secundaria. Una segunda infección con un serotipo diferente conduce a la forma más grave de la enfermedad que la infección primaria (16). Uno de los hallazgos de laboratorio más comunes en el dengue es la trombocitopenia (17). El complejo mecanismo de trombocitopenia sigue siendo poco claro. Los posibles mecanismos de trombocitopenia podrían ser, supresión directa de la médula ósea por el virus; destrucción de las plaquetas mediada por anticuerpos antidengue, el consumo periférico de las plaquetas y la replicación viral aislada en la plaqueta. La trombocitopenia conduce a sangrado aunque el recuento de plaquetas no puede correlacionarse directamente con la manifestación del sangrado (18).

Recientemente, nuevos índices de plaquetas tales como MPV, PDW, y PLT se han investigado como marcadores de activación de plaquetas prospectivos. El Plateletricit es un marcador de la función plaquetaria y mide el volumen de plaquetas dependiente de la media (MPV). El MPV puede utilizarse como predictor independientes de sangrado. Es marcador indirecto de la actividad de la médula ósea; un MPV alto indica una mayor actividad de megacariocitos. Una baja MPV indica supresión de la médula y un mayor riesgo de hemorragia. (19)

La correlación de los índices plaquetarios con el riesgo de sangrado y la gravedad de la enfermedad pueden potencialmente predecir el resultado (20).

Las Plaquetas con aumento del número y tamaño, posiblemente afectan el ancho de distribución de plaquetas (PDW), lo que sucede durante la activación de las plaquetas (19).

Uno de los hallazgos de laboratorio más comunes en el dengue es la trombocitopenia que conduce a sangrado aunque el conteo de plaquetas puede que no se corresponda directamente con la manifestación. Recientemente los índices de plaquetas se han investigado como marcadores de activación prospectivos para el apoyo diagnóstico (21). Se ha observado en algunos estudios que el MPV puede utilizarse como factor predictivo independiente de sangrado. (23)

2.2.MARCO TEÓRICO:

VIRUS DEL DENGUE

ORIGEN Y EPIDEMIOLOGÍA:

Las primeras apariciones del dengue se dieron entre 1827 y 1828 en el sudeste Asiático (18), a partir de esto se propago rápidamente afectando a varios países del Caribe, fue considerada una enfermedad que provocaba intensos dolores articulares y erupciones, se empezó a extender rápidamente desde las Islas Vírgenes hasta los territorios de Cuba, Jamaica, las Antillas menores, Venezuela y la porción nororiental de Colombia (65).

Los esclavos provenientes de África identificaron a esta entidad patológica como dinga o dyenga, homónimo del swahili ki denga pepo, que significa “ataque repentino causado por un espíritu malo”. Así se originó el término dengue que hoy da nombre a uno de los principales problemas de la Salud Pública mundial (19).

En las últimas décadas su incidencia ha incrementado de forma increíble en el mundo. De acuerdo a datos recientes según la OMS (Organización mundial de la salud) se produce 390 millones de infecciones por dengue cada año, dentro de los cuales 96 millones se manifiestan clínicamente (20).

Otros estudios han demostrado que la prevalencia de esta infección llega a 3900 millones de personas, de los 128 países de los que se encuentran en riesgo de adquirir el virus (21).

Puede encontrarse con mayor frecuencia en lugares específicos ya que este se presenta en los climas tropicales y subtropicales de todo el planeta, sobre todo en las zonas urbanas y semiurbanas, siendo así en algunos países asiáticos y latinoamericanos el dengue grave una causa de enfermedad y muerte en los niños (23)

La Organización Mundial de la salud (OMS) considera que el dengue es un importante problema de salud pública mundial en el trópico y los países subtropicales. El dengue se ha visto un aumento de 30 veces en todo el mundo entre 1960 y 2010, debido a una mayor tasa de crecimiento de la población, el calentamiento global, la urbanización no planificada, el control de mosquitos ineficiente, frecuentes viajes en avión, y la falta de centros de salud (2) (24) (25)

Dos mil quinientos millones de personas residen en regiones endémicas de dengue (24) y alrededor de 400 millones de infecciones que ocurren por año, con una tasa de mortalidad del 5-20% superando en algunas zonas (26). El dengue afecta a más de 100 países, incluyendo Europa y Estados Unidos (EE.UU.). El primer caso de dengue en la India fue en Madrás en 1780, la primera epidemia virológicamente comprobada se produjo en Calcuta y Costa Oriental de la India en 1963-64 (27).

DEFINICION Y ESTRUCTURA DEL VIRUS:

El dengue es considerada una enfermedad febril aguda de origen viral. El virus está compuesto por ARN y formado por una partícula madura esférica con un diámetro de 50nm que contiene varias copias de las tres proteínas que conforman su membrana con polaridad positiva. Su genoma está compuesto por proteasas virales y proteínas estructurales y no estructurales (24).

Es un miembro del género Flavivirus de la familia Flaviviridae, es un virus transmitido por un vector, que incluye cuatro serotipos diferentes (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) (28) (29) (30).

La infección por el virus del dengue se presenta con un diverso cuadro clínico que abarca desde enfermedades asintomáticas hasta fiebre y cuadro hemorrágico del dengue con o sin síndrome de choque del dengue (FHD / SCD) (2). La afectación de la mucosa oral se observa en aproximadamente el 30% de los pacientes, aunque las características orales se asocian con mayor frecuencia con Dengue Hemorrágico que con el Dengue Febril (30).

Este tiene variada presentación clínica, por lo tanto, un diagnóstico exacto es difícil y se basa en la confirmación de laboratorio. La condición suele ser auto-limitada y la terapia antiviral no está disponible actualmente. La atención de apoyo con analgésicos, hidratación con reposición de líquidos, y suficiente reposo en cama forma la estrategia de gestión preferida.

CLASIFICACIÓN:

La OMS clasifica DF en dos grupos:

- No complicadas y graves (2) (31)

Los casos más graves están relacionados con la hemorragia excesiva, falla multiorgánica o fuga de plasma severa, y los casos restantes se consideran sin complicaciones (2).

Según la clasificación de 1997, el dengue se puede dividir en Dengue Febril, y el dengue hemorrágico (32)

El Dengue Hemorrágico se subdividió en los grados I-IV:

- Grado I: Sólo contusión leve o una prueba del torniquete positiva
- Grado II: El sangrado espontáneo en la piel y en otros lugares
- Grado III: signo clínico de choque
- Grado IV: shock severo - pulso débil, y la presión arterial no se pueden grabar (32).

ETIOPATOGENIA:

Al ser una infección grave similar a la gripe que involucra a individuos de todas las edades (lactantes, niños, adolescentes y adultos) (30). La transmisión a los seres humanos se produce por el mosquito *Aedes aegypti* y principalmente se produce durante la temporada de lluvias (33).

Para que se dé la transmisión del virus el mosquito hembra debe ingerir sangre de un humano con viremia, así el virus se traslada al intestino medio del vector para que posteriormente se dé una propagación general luego de un periodo de incubación del virus de 8 a 12 días, a este proceso se lo conoce como incubación extrínseco, el cual está altamente influenciado por las condiciones ambientales. Luego de eso el mosquito permanece infeccioso durante el resto de su vida, para transmitir el virus a otros seres humanos durante su picadura (34).

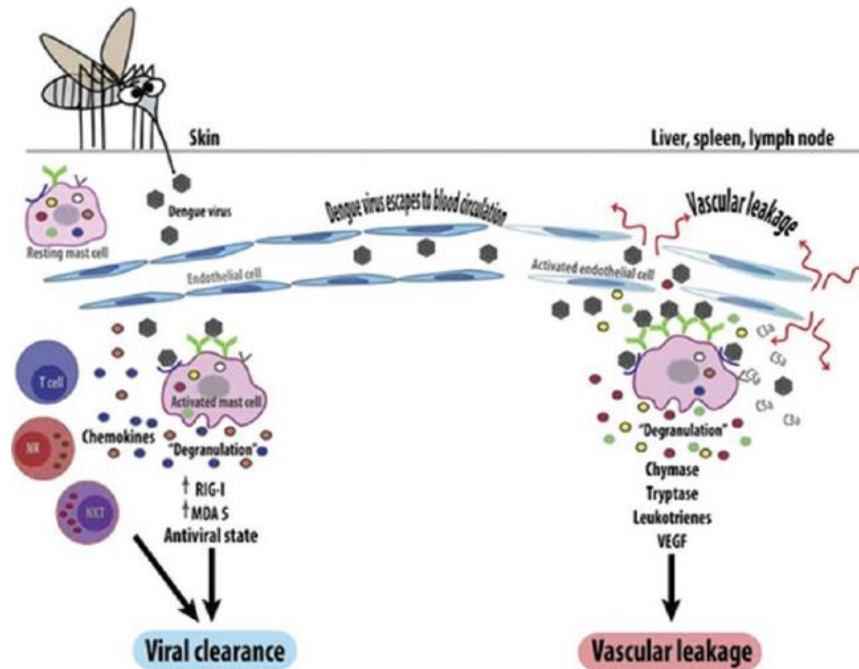
También existe la transmisión vertical o trans-ovárica del virus, la misma que se ha demostrado con pruebas de laboratorio pero no de campo ya que esta aún no está bien comprendida aun por los científicos. Existen varios factores que influyen para que se dé la transmisión del virus, así entre los más importantes tenemos a los factores ambientales y climáticos, interacciones entre huéspedes y patógenos al igual que factores inmunológicos de la población.

Las etiologías propuestas para la infección por virus dengue son:

- La replicación viral, principalmente en los macrófagos (33)
- La infección directa de la piel por el virus (35)
- Mecanismo inmunológico y mediado químicamente por inducción huésped-viral (36)

El dengue virus obtiene entrada en el organismo huésped a través de la piel como consecuencia de la picadura de un mosquito infectado. La respuesta Humoral, celular, e innata del huésped están implicadas en la progresión de la enfermedad y los síntomas clínicos más graves se producen tras el rápido aclaramiento del virus en el organismo huésped. Por lo tanto, la presentación clínica más severa durante el curso infección no se correlaciona con una carga viral alta (31)

Las alteraciones en la permeabilidad microvascular endotelial y mecanismos trombo regulatorios conducen a una mayor pérdida de proteínas y plasma. Teorías propuestas sugieren que la activación de las células endoteliales causada por monocitos, células T, el sistema del complemento, y varias moléculas inflamatorias son las que promueven la extravasación de plasma. La trombocitopenia puede estar relacionada con alteraciones en megacariocitopoyesis, que se manifiestan por la infección de las células hematopoyéticas humanas y el crecimiento de células progenitoras comprometidas. Esto puede causar disfunción plaquetaria, daño o agotamiento, lo que conduce a hemorragias importantes (36) (Ver Fig. 1)



La Figura 1: Muestra una representación esquemática de la patogénesis de dengue (37).

RESPUESTAS INMUNES DEL HUÉSPED A DENV:

Después de la infección por DENV, las personas desarrollan anticuerpos séricos contra tres proteínas estructurales (cápside [C], del sobre [E] y proteínas preM) y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, y NS5) (38) (39) (40) (41). Algunos investigadores han informado sobre los niveles más altos de prM y anticuerpos NS1 en secundaria en comparación con las infecciones primarias. Los anticuerpos que se unen a NS1 son particularmente interesantes, ya que es una proteína no estructural que es secretada a partir de células infectadas (39).

Tras la infección secundaria con un serotipo heterogéneo durante este período de disminución de la inmunidad, se activan las células de memoria homotípica específica de serotipo T y B. Esta inmunidad específica de serotipo temprano se dirige contra la infección por el serotipo DENV antes, pero no a la corriente de serotipo infectante (42) (43). Durante la infección secundaria, las respuestas de

células T dirigidas contra el serotipo infectante anterior no confieren protección y están asociados con la activación de cascadas inmunes que inducen síntomas graves (42).

A medida que la enfermedad progresa a la fase de convalecencia, el serotipo de reacción cruzada desarrolla inmunidad con gran avidez a los cuatro serotipos DENV. Estos anticuerpos ampliamente reactivos confieren protección a los cuatro serotipos. Una tercera o cuarta infección puede ocurrir en áreas hiperendémicas, aunque la mayoría de estas infecciones son la hipótesis de ser asintomática o leve (44).

DIAGNÓSTICO:

El diagnóstico de dengue se hace por lo general de manera clínica. La imagen clásica es fiebre alta con ninguna fuente de infección localizada, una erupción petequeal con trombocitopenia y leucopenia relativa (bajo de plaquetas y de glóbulos blancos). El cuidado tiene que ser tomado como diagnóstico de la fiebre hemorrágica de dengue (FHD) ya que puede enmascarar la enfermedad hepática en fase terminal. (70) Si el paciente tiene fiebre persistente por más de 2 días, entonces se debe realizar el chequeo sanguíneo completo, mientras que si el recuento de plaquetas y de glóbulos blancos está por debajo de su rango habitual se debe ir por la prueba de detección de anticuerpos del dengue.

Esta enfermedad presenta un amplio esquema de manifestaciones clínicas que pueden ser graves y no graves (45). Luego del periodo de incubación, la enfermedad presenta tres fases de evolución así tenemos la etapa febril, la crítica y la convalecencia, dependiendo en gran parte del analista clínico en identificar la presencia del virus de forma oportuna (9).

Una respuesta directa y bien manejada no solo reduce el número de hospitalizaciones innecesarias, sino que salva la vida de los pacientes con dengue. La notificación temprana de los casos de dengue vistos en los centros de atención primaria y secundaria es crucial para la identificación de brotes y la iniciación de una respuesta temprana. Se deben tener en cuenta los posibles diagnósticos diferenciales (45).

FASE FEBRIL

Es típico que los pacientes desarrollen fiebre alta de forma abrupta. La fase febril aguda dura de 2 a 7 días y a menudo está acompañada de rubor facial, eritema de la piel, dolor corporal generalizado, mialgias, artralgias y cefalea (46). Algunos pacientes pueden tener dolor de garganta. También son comunes la anorexia, las náuseas y el vómito. En la primera fase febril temprana, puede ser difícil el distinguir clínicamente el dengue de otras enfermedades febriles que no tienen relación alguna con el dengue. Si la prueba del torniquete resulta positiva en esta fase aumenta las probabilidades de que sea dengue (47) (48).

Además, estas características clínicas son indistinguibles en los casos de dengue grave y no grave. Por lo tanto, el seguimiento de los casos para detectar los signos de alerta y otros parámetros clínicos (cuadro C) es crucial para reconocer la evolución hacia la fase crítica. Se pueden observar manifestaciones hemorrágicas leves, como petequias y sangrado de mucosas (por ejemplo, nasal y de las encías) El sangrado vaginal masivo (en mujeres en edad fértil) y el sangrado gastrointestinal pueden ocurrir en esta fase, pero no es lo común. El hígado a menudo está aumentado de tamaño y blando después de algunos días de fiebre La anormalidad más temprana en el cuadro hemático es una reducción progresiva del número total de glóbulos blancos, lo cual debe alertar al médico de una alta probabilidad de dengue (50)

FASE CRÍTICA

Alrededor del momento de la disminución de la fiebre, cuando la temperatura cae a 37,5°C o 38°C o menos y permanece por debajo de este valor, usualmente en los días 3 a 7 de la enfermedad, se puede presentar un aumento en la permeabilidad capilar junto con mayores valores del hematocrito. Esto marca el inicio de la fase crítica. El período de extravasación de plasma dura generalmente entre 24 y 48 horas. (71)

La leucopenia progresiva seguida de una rápida disminución del número de plaquetas precede usualmente la extravasación de plasma (73). En este momento, los pacientes que no presentan aumento de la permeabilidad capilar mejoran, mientras que los que tienen un aumento de la permeabilidad capilar pueden empeorar como resultado de la pérdida del volumen plasmático. El grado de extravasación varía.

El derrame pleural y la ascitis se pueden detectar clínicamente dependiendo del grado de extravasación de plasma y del volumen de reemplazo de líquidos. Por tanto, la placa de tórax y el ultrasonido abdominal pueden ser herramientas útiles para el diagnóstico. Un aumento superior al valor de referencia del hematocrito a menudo refleja la gravedad de la extravasación de plasma (51).

En esta fase del dengue, el número total de glóbulos blancos puede aumentar en los pacientes con sangrado grave. Además, también se puede desarrollar un deterioro orgánico importante, con hepatitis, encefalitis o miocarditis, y, también sangrado grave, sin extravasación plasmática evidente o choque (52).

Se dice que los pacientes que mejoran después de la caída de la temperatura tienen dengue no grave. Algunos pacientes progresan a la fase crítica de extravasación de plasma sin que haya disminución de la temperatura y, en estos pacientes, se deben usar los cambios en el cuadro hemático completo para determinar la aparición de la fase crítica y la extravasación de plasma. Los que empeoran, presentan signos de

alerta. Esto se conoce como dengue con signos de alerta. Los casos de dengue con signos de alerta probablemente se recuperarán con rehidratación intravenosa temprana. Algunos casos pueden agravarse hasta llegar a dengue grave.

FASE DE RECUPERACIÓN

Si el paciente sobrevive a la fase crítica de 24 a 48 horas, en las siguientes 48 a 72 horas tiene lugar una reabsorción gradual de los líquidos del compartimiento extravascular. Mejora el bienestar general, regresa el apetito, disminuyen los síntomas gastrointestinales, se estabiliza el estado hemodinámico y se presenta diuresis.

El conteo de leucocitos generalmente comienza a subir inmediatamente después de la disminución de la fiebre, aunque la recuperación del número de plaquetas generalmente es posterior al del número de leucocitos (53).

El virus es transmitido a través de la piel en el momento de la picadura del vector (mosquito *Aedes Aegypti*), la infección se propaga a través de la sangre produciéndose la fase aguda de la enfermedad en donde se pone de manifiesto la fiebre, según investigadores los síntomas de la enfermedad aparecen aproximadamente entre los días 4- 6 manifestándose las inmunoglobulinas IgM y a medida que esta patología avanza la fiebre desaparece, pudiendo llegar a la siguiente etapa febril entre los días 8-10 en donde se encontraran en el plasma o suero del paciente inmunoglobulinas IgG.

Se considera que las respuestas inmunitarias humorales y celulares contribuyen a la liberación del virus mediante la generación de anticuerpos neutralizadores y la activación de los linfocitos T CD4+ y CD8+. Además, la defensa innata del huésped puede limitar la infección causada por el virus. Después de la infección, los

anticuerpos de reacción específica para el serotipo y los de reacción cruzada, y las células T CD4+ y CD8+, pueden detectarse y medirse durante años (54).

El dengue grave está caracterizado por extravasación de plasma, hemoconcentración y alteraciones en la homeostasis. Los mecanismos que conducen a la enfermedad grave no están bien definidos, pero la respuesta inmunitaria, los antecedentes genéticos del individuo y las características del virus pueden contribuir al dengue grave (76).

Los datos recientes sugieren que la activación de las células endoteliales podría mediar la extravasación de plasma (51). Se cree que la asociación de esta última es mayor con los efectos funcionales que los destructivos en las células endoteliales. La activación de los monocitos infectados y las células T, el sistema del complemento y la producción de mediadores, monocinas, citocinas y receptores solubles, también pueden estar involucrados en la disfunción de las células endoteliales (78).

La trombocitopenia puede estar asociada con alteraciones en la megacariocitopoyesis causada por la infección de las células hematopoyéticas humanas y con el deterioro del crecimiento de células progenitoras, lo que resulta en disfunción plaquetaria (activación y agregación de plaquetas), mayor destrucción o consumo (secuestro o consumo periférico). La hemorragia puede ser consecuencia de la trombocitopenia y la disfunción plaquetaria asociada o de la coagulación intravascular diseminada (74).

En resumen, ocurre un desequilibrio transitorio y reversible de los mediadores, citosinas y quimosinas durante el dengue grave, impulsado probablemente por una elevada carga viral temprana, lo que conduce a disfunción de las células endoteliales vasculares, trastorno del sistema de hemocoagulación, y, luego, a extravasación de plasma, choque y sangrado.

En general el descubrimiento de esta enfermedad es siempre un diagnóstico de exclusión, y se debe sospechar otras enfermedades con la misma presentación clínica inicial. Con el fin de ayudar al clínico en la detección de formas graves de dengue aun cuando el diagnóstico definitivo aún no se lo ha hecho.(55)

Atención cautelosa debe ser dirigida al Dengue Febril si un paciente sufre de fiebre alta dentro de 2 semanas de estar en los trópicos o subtrópicos (5). La leucopenia, acompañada de trombocitopenia y acidosis metabólica son los cambios iniciales en los exámenes de laboratorio. Las pruebas de laboratorio microbiológico confirma el diagnóstico de Dengue. La segregación del virus en cultivos celulares, la demostración de ácido nucleico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y la detección serológica de antígenos virales (tales como NS1) o anticuerpos particulares son los ensayos microbiológicos preferidos (24).

La segregación Viral y demostración de ácido nucleico proporcionan un diagnóstico preciso, aunque el alto costo limita la disponibilidad de estas pruebas.

LAS PLAQUETAS EN EL DENGUE:

Las plaquetas son células anucleadas y se derivan de la demarcación de los megacariocitos. Aunque el tamaño de la plaqueta es pequeño, las plaquetas desempeñan funciones biológicas, incluyendo la síntesis de proteínas, y poseen receptores en la superficie de la transducción de señales. Las plaquetas circulan a través de los vasos sanguíneos durante el cual se supervisan la integridad del sistema vascular (79). Todas las respuestas funcionales de las plaquetas deben estar estrechamente regulado para asegurar que la formación de un coágulo de sangre es de tamaño suficiente para sellar el área dañada, mientras que no interrumpir el flujo sanguíneo a los órganos vitales, causando oclusión (54). Es importante destacar que varios receptores vinculados a la entrada del virus del dengue, tales como las células dendríticas, la molécula de adhesión intercelular-3 no integrina (DC-SIGN) o el receptor de mejora (FcγII), se puede encontrar en la superficie plaquetaria (56)

Una de las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad del dengue es la trombocitopenia (57) . Esto surge tanto por la disminución en la producción como por el aumento de la destrucción de plaquetas (58). Uno de los hallazgos de laboratorio más comunes en el dengue es la trombocitopenia (60). El complejo mecanismo de la trombocitopenia sigue siendo poco claro. Los posibles mecanismos de trombocitopenia podrían ser la supresión directa de la médula ósea por el virus; La destrucción de plaquetas mediada por anticuerpos contra el dengue, el consumo periférico de plaquetas y la replicación viral aislada en las plaquetas. La trombocitopenia conduce a sangrado, aunque el recuento de plaquetas puede no correlacionarse directamente con la manifestación hemorrágica (60).Curiosamente, el grado de trombocitopenia aparece bien correlacionada, no sólo con la gravedad clínica sino también con la respuesta inmunológica (61). Por lo tanto, el deterioro de la función plaquetaria puede aumentar el riesgo de fragilidad vascular que conduce a la hemorragia. Esto puede estar implicado en el mecanismo que contribuye a la pérdida de plasma en formas graves de dengue (FHD / SCD) (62)

En la infección por el virus del dengue, la detección de antígenos virales en la superficie de las plaquetas, inmunocomplejos que contienen plaquetas en las muestras de biopsia de la piel, y la asociación de virus dengue con plaquetas in vitro han sido bien documentados (58) (61). Sin embargo, hasta la fecha no hay pruebas de que el virus puede replicarse en las plaquetas de los pacientes infectados, y en consecuencia la función exacta de las plaquetas en la patogénesis de la infección por el virus dengue relacionada con DHF o DSS es aún desconocido. Es importante destacar que los mecanismos precisos que representa el desarrollo de la trombocitopenia, si las plaquetas están infectadas directamente, y su papel en las infecciones virales de dengue siendo difícil de alcanzar.(72)

EL ANCHO DE LA CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN EL DENGUE:

En un estudio previo, el autor midió el recuento de plaquetas y también el volumen medio de plaquetas (MPV) en 30 pacientes tailandeses con fiebre hemorrágica del dengue durante la temporada endémica del 2003. Donde el MPV media fue $8,97 \pm 0,37$ fL (rango 8 - 9,7) para el dengue febril, mientras que el recuento de plaquetas media se encuentra en disminución, el promedio de este está dentro del rango normal obtenida para las poblaciones sanas en el dengue febril. Además, la gama de MPV entre los pacientes fue bastante estrecha y una distribución normal. Así, este valor para los pacientes con dengue febril esta normal, mientras que para el dengue hemorrágico parece tener un factor predictor (49).

Recientemente, nuevos índices de plaquetas como MPV, PDW y P-LCR se han investigado como marcadores de activación plaquetaria prospectiva (63). El volumen de plaquetas, un marcador de la función plaquetaria y la actividad se mide como volumen medio de plaquetas (MPV) por analizadores de hematología. Se puede utilizar como predictores independientes de sangrado. Es un marcador sustituto de la actividad de la médula ósea; Un resultado alto indica una mayor actividad de megacariocitos, mientras que un bajo indica la supresión de la médula y un mayor riesgo de sangrado.

2.3 HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis nula

La determinación de la curva de distribución plaquetaria no se relaciona como factor pronóstico en el tipo de dengue.

2.3.2 Hipótesis alternativa

La determinación de la curva de distribución plaquetaria si se relaciona como factor pronóstico en el tipo de dengue.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

El presente estudio fue de tipo correlacional, ubicado en el nivel explicativo sin intervención, observacional, donde se buscó la causalidad del comportamiento plaquetario en los pacientes con dengue.

3.2. POBLACIÓN:

El estudio se realizó en el Hospital Básico IESS Ancón en el periodo comprendido entre el 25 de Abril y 15 de Junio del 2016. Se incluyeron para el estudio 86 pacientes con diagnóstico de Dengue y un número de 85 pacientes sanos, de todas las edades, distribuidos en dos grupos:

3.2.1. DISEÑO MUESTRAL:

Al tratarse de un estudio con una población pequeña se decidió trabajar con toda la población.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes que presentaron clínica de la enfermedad y que en triaje se les realizó un análisis de detección indirecta del virus del dengue (anticuerpos IgM e IgG).
- Personas que vivan dentro de la Provincia de Santa Elena.

- Pacientes ingresadas por sospecha de dengue y cuadro febril, con serológicamente negativos para pertenecer al grupo control.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Pacientes con enfermedades crónico degenerativas
- Pacientes que no otorgaron el consentimiento informado.

3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES:

VARIABLE INDEPENDIENTE: TIPOS DE DENGUE

Conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems	Técnicas	Instrumentos
<p>El dengue es un tipo de infección viral transmitida por un vector como es el mosquito Aedes Aegypti, esta enfermedad predomina en ciudades tropicales y subtropicales.</p> <p>Se puede distinguir dos tipos :</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Dengue clásico • Dengue Hemorr 	<p>Se caracteriza por presentar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fiebre por más de 5 días - Salpullido en tronco, brazos y piernas <p>Se caracteriza por presentar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Petequias 	<p>¿Qué síntomas son los más relevantes para que se pueda tratar a un paciente con dengue clásico?</p> <p>¿Qué síntomas son los más relevantes para que se pueda tratar a un</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Observación 	<ul style="list-style-type: none"> - Hoja de registro - Cuaderno de notas

	ágico	- Dificultad en la respiración.	paciente con dengue hemorrágico?		
--	-------	---------------------------------	----------------------------------	--	--

Fuente: Mayra Alexandra Guerrero Fuentes.

VARIABLE DEPENDIENTE: CURVA DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DENGUE.

Conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems	Técnicas	Instrumentos
El plateletcrit es un parámetro importante para la detección oportuna de dengue clásico y hemorrágico ya que ayuda a los pacientes a que su enfermedad sea detectada a tiempo.	- MPV (Volumen Medio de Plaquetas)	<p>Es una medida que describe el tamaño medio de las plaquetas</p> <p>Su valor normal es de normal puede variar desde 5 a 15 fl llegando a ser un factor pronostico al relacionarlo con otros datos clínicos.</p>	<p>¿Puede el volumen medio de plaquetas ayudar a que se detecte una enfermedad a tiempo antes de saber el valor de las plaquetas?</p>	<p>• Observación</p>	<p>- Hoja de registro</p> <p>- Cuaderno de notas.</p>

	- PLAQUETAS	<ul style="list-style-type: none"> - Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos pequeños, irregulares y carentes de núcleo - Intervienen en la coagulación - Su valor normal es de 150.000-400.000/ uL 	¿Los valores de las plaquetas pueden ayudar a brindar un diagnóstico certero de la enfermedad?		
--	-------------	---	--	--	--

Fuente: Mayra Alexandra Guerrero Fuentes.

3.4.DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN:

La investigación se realizó en el Laboratorio Clínico del Hospital Básico IESS Ancón de la provincia de Santa Elena, el total de pacientes para este estudio fue de 171 siendo 86 los casos, es decir pacientes serológicamente positivos con dengue y 85 pacientes serológicamente negativos.

La investigación se realizó de la siguiente manera:

1. Solicitar la autorización mediante oficio y entrega del ante-proyecto al Dr. Msc. Angel Timm Duque Director médico para que se me permita realizar la investigación en la institución.
2. Se solicitó hablar con la jefa de laboratorio Lcda. Vilma Pilco para coordinar los horarios en que se asistirá al centro a realizar la investigación, en donde se llegó al acuerdo de que los análisis se realizarían a partir de las 16:00 hasta las 19:00 los lunes, martes y miércoles desde el 25 de Abril al 15 de junio.
3. Revisión en el sistema de datos de pacientes que se han realizado los análisis para determinación de anticuerpos IgG e IgM de dengue y anotarlos en el libro de registro diario y cuaderno de notas.
4. Seleccionar los pacientes que formarán parte de la investigación mediante los criterios de inclusión y exclusión.
5. Separar las muestras de los pacientes del día y empezamos y aprocesar de la siguiente manera:
 - Buscar en el cuaderno de notas del laboratorio los códigos de los muestras
 - Separar y ordenar en una gradilla los tubos tapa lila y tapa roja que serán procesados respectivamente.
 - Observar que las muestras no estén hemolizados.
 - Los tubos tapa lila los llevaremos al agitador para que sean homogenizados durante 5 minutos.
 - Los tubos tapa roja si no se encuentran debidamente centrifugados los llevamos a someter a este proceso durante 10 minutos a 1000 Gravedades.

Para el conteo de plaquetas en las muestras con EDTA seguimos el siguiente proceso:

- Antes de empezar revisaremos que todos los materiales a utilizar estén completamente limpios para asegurarnos que no interfieran en nuestro resultado.
- En un tubo colocar 200 ul de diluyente de plaquetas
- Pipetear 10 ul de sangre total previamente homogenizada al tubo con diluyente y homogenizar.
- Colocar la cámara de Neubauer ya cargada en el interior de una caja de Petri, con papel filtro humedecido en agua para evitar la evaporación, dejar en reposo de 10 a 15 minutos.
- Observar al microscopio con lente de 40X contando en la cuadrícula central (para glóbulos rojos) las plaquetas que aparecen mucho más pequeñas que los hematíes, redondas, alargadas u ovales, altamente refringentes.
- Contamos los 5 cuadrantes y con la siguiente fórmula procedemos a sacar el valor de las plaquetas /mm³
$$\text{N}^\circ \text{ de plaquetas} \times \text{mm}^3 = \text{No. De plaquetas contadas} \times \text{dilución} \times 10$$

Mientras esperamos para relaizar el contaje procedemos a relaizar el test de dengue con el OnSite Dengue IgG/IgM Combo rapid test de la siguiente forma:

- Revisamos el inserto del test y realizamos una pequeña prueba de control de calidad:
 - Escogemos una muestra serológicamente positiva y una negativa, para con estas realizar el test y comprobar su calidad.
- Vemos que las pipetas funcionen correctamente y que las puntas estén debidamente esterilizadas.
- Abrimos uno de los tests y con una pipeta colocamos 50uL de suero en el test y nos aseguramos que no hay burbujas que puedan interferir en los resultados
- Colocamos 50 uL del diluyente en el mismo lugar donde colocamos la muestra.

- Esperamos 15 min y luego empezamos a leer:
 - El resultado será **negativo** si solo hay presencia de tinción en la banda C.
 - El resultado ser **positivo** si a más de pintar la banda C también pinta la banda G que indica la presencia de virus dengue anti- IgG o la banda M que señala la existencia de dengue anti- IgM.

Ya con todos los datos anotados en nuestro registro diario procedemos a sacar el valor MPV y Pct (plaquetocrito) que nos ayudara para sacar nuestro plateletcrit (curva de distribución plaquetaria).

Para sacar las fórmulas se consultó varias bibliografías de artículos relacionados ya que no se podía realizar ese método por separado es decir que sin el valor de MPV y Pct no podíamos obtener el de plateletcrit y de igual forma el de MPV y Pct, siendo así que se basó en el manual del equipo para ver como este realizaba dicho procedimiento, llegando a la conclusión que para obtener el valor que necesitamos es necesario lo siguiente:

$$*\text{Valor encontrado} = \text{Plt}/1000$$

$$\text{MPV} = *\text{Valor encontrado} / \text{Plt} \times 10000$$

$$\text{Pct} = \text{Plt} \times \text{MPV} / 1000$$

Valores Normales	
Plt (Plaquetas)	150.000-400.000/ uL
MPV (Volumen medio plaquetario)	5-15fl
PLATELETCRIT (Plaquetocrito)	0.21 - 0.36 %

Ya con esto se procedió a realizar la tabla de datos con todos los valores de los casos y controles, así correlacionaríamos como va variando los valores de plateletcrit entre las personas sanas y los ya diagnosticados con el tipo de dengue para poder llegar comprobar o no nuestra hipótesis mediante nuestros resultados estadísticos entre los cuales tenemos:

- Distribución de grupos etarios y genero

- Relación de grupos etarios y dengue clásico – hemorrágico
- Frecuencia de tipo de dengue
- Estadísticas descriptivas del contaje de plaquetas.
- Valores de plateletcrit relacionados con el tipo de dengue
- Chi -cuadrado de Pearson
- T-student

Los valores de plateletcrit de los casos eran más representativos que los de las personas sanas (controles) ya que el rango era normal en estos últimos, mientras que en los infectados tendían a disminuir notoriamente.

3.5.ASPECTOS ÉTICOS:

CONFIDENCIALIDAD DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA

CONFIDENCIALIDAD: es la obligación que tiene el investigador de limitar el acceso a la información personal o identificable de los participantes en la investigación. Esta información debe ser identificable acerca de la persona que participa, no serán revelados a otros sin un consentimiento (64).

INTIMIDAD: los datos recolectados durante la investigación no deben ser publicados de tal manera que identifique a la persona a la cual se le realizó el análisis.

PRIVACIDAD: los datos obtenidos son propios de cada paciente que intervenga en la investigación, la privacidad está basada en guardar la dignidad de los pacientes, es algo propio, y solo es paciente está en la capacidad de decidir sobre ellos. Forman parte de la intimidad, la religión, el diagnóstico de una enfermedad, la causa de muerte, la actividad

sexual, etc. La privacidad y la intimidad son bienes protegidos por nuestra Constitución (65).

ANONIMATO: los datos deben ser recolectados sin ninguna información personal o identificable. Las preocupaciones de carácter ético y legal acerca de la confidencialidad, pueden fácilmente resolverse, recolectando únicamente datos anónimos de los participantes en la investigación.

CAPÍTULO IV

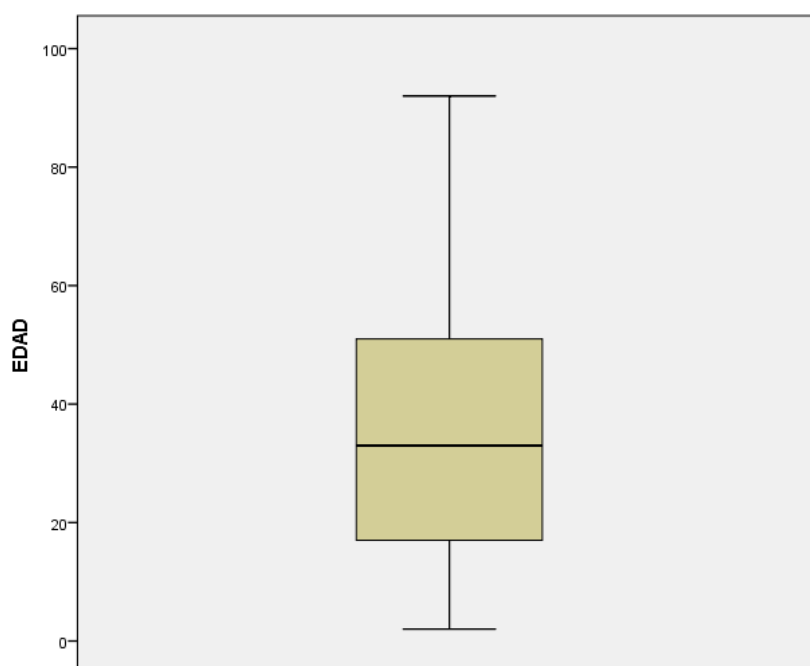
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.RESULTADOS:

TABLA 1
GRUPOS ETARIOS

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
EDAD	171	2	92	35,02	20,763

GRÁFICO 1



Fuente: Hospital Básico IESS Ancón

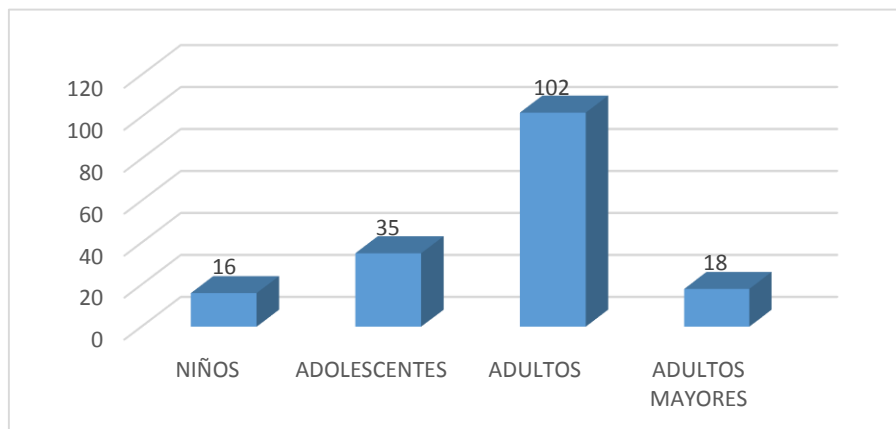
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: De los 171 pacientes analizados se obtiene la edad media de la población de $35,2 \pm 20,763$, el menor fue de 2 y el mayor de 92 con un rango de 90, lo que implica que este virus se manifiesta en cualquier tipo de personas. **(Ver Tabla 1)**
(Ver Gráfico 1)

TABLA 2
DISTRIBUCIÓN DE GRUPOS

		Frecuencia	Porcentaje
	NIÑOS	16	9,4
	ADOLESCENTES	35	20,5
	ADULTOS	102	59,6
	ADULTOS MAYORES	18	10,5
	Total	171	100,0

GRÁFICO 2



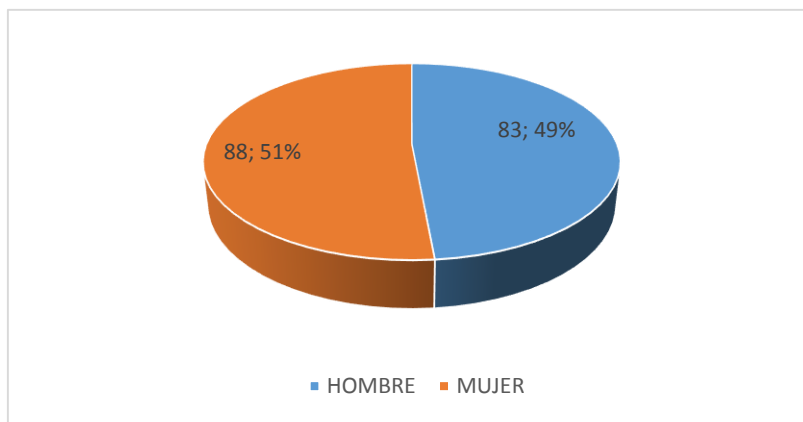
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: El grupo con mayor prevalencia de dengue fue el de adulto seguido de adolescentes y adultos mayores, lo que señala que los adultos llegan a ser más vulnerables al virus. **(Ver Tabla 2) (Ver gráfico 2)**

TABLA 3
DIVISIÓN POR GRUPOS DE GÉNERO

		Frecuencia	Porcentaje
	HOMBRE	83	48,5
	MUJER	88	51,5
	Total	171	100,0

GRÁFICO 3



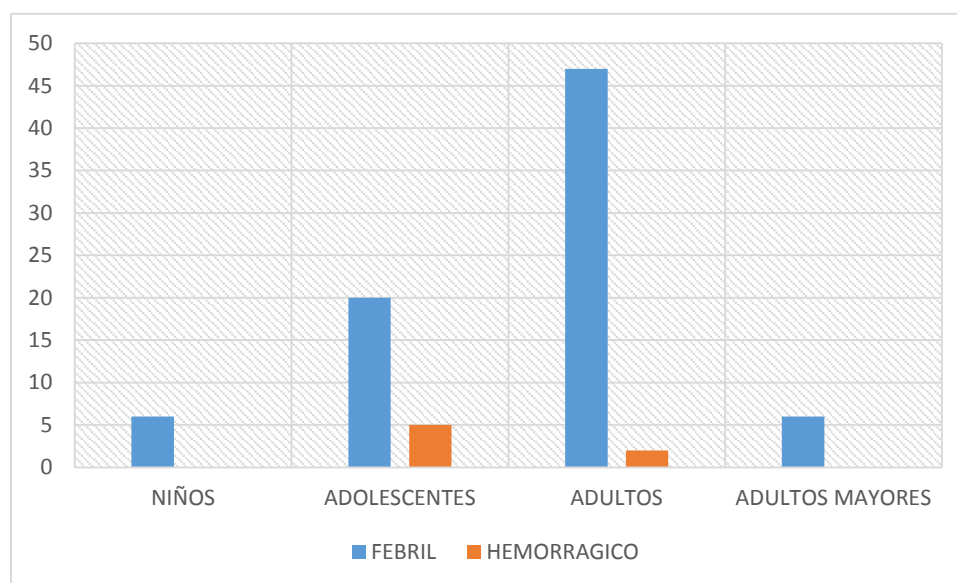
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: Del total de 171 pacientes se obtiene que 51 % corresponde a mujeres con una frecuencia de 88 y el 49% a hombres con frecuencia de 83 como se muestra en el gráfico. (Ver Tabla 3) (Ver Gráfico 3)

TABLA 4
CLASIFICACIÓN DEL VIRUS

		FEBRIL			HEMORRAGICO		
		Recuento	% del N de columna	% del N de fila	Recuento	% del N de columna	% del N de fila
GRUPO ETARIO	NIÑOS	6	7,6%	100,0%	0	0,0%	0,0%
	ADOLESCENTES	20	25,3%	80,0%	5	71,4%	20,0%
	ADULTOS	47	59,5%	95,9%	2	28,6%	4,1%
	ADULTOS MAYORES	6	7,6%	100,0%	0	0,0%	0,0%

GRÁFICO 4



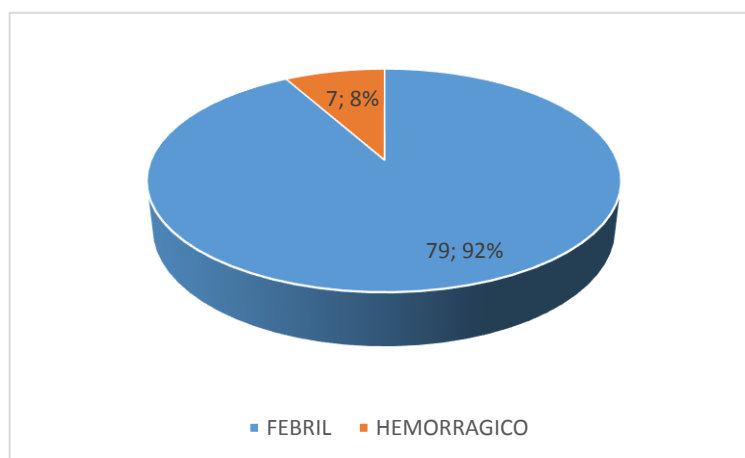
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: En el análisis los niños y adultos mayores presentan solo dengue de tipo febril, en relación con los adolescentes y adultos que presentaron más casos de dengue hemorrágico. (Ver Tabla 4)

TABLA 5
FRECUENCIA DE TIPO DE DENGUE

	Frecuencia	Porcentaje
FEBRIL	79	91,86%
HEMORRAGICO	7	8,14%
Total	86	100%

GRÁFICO 5



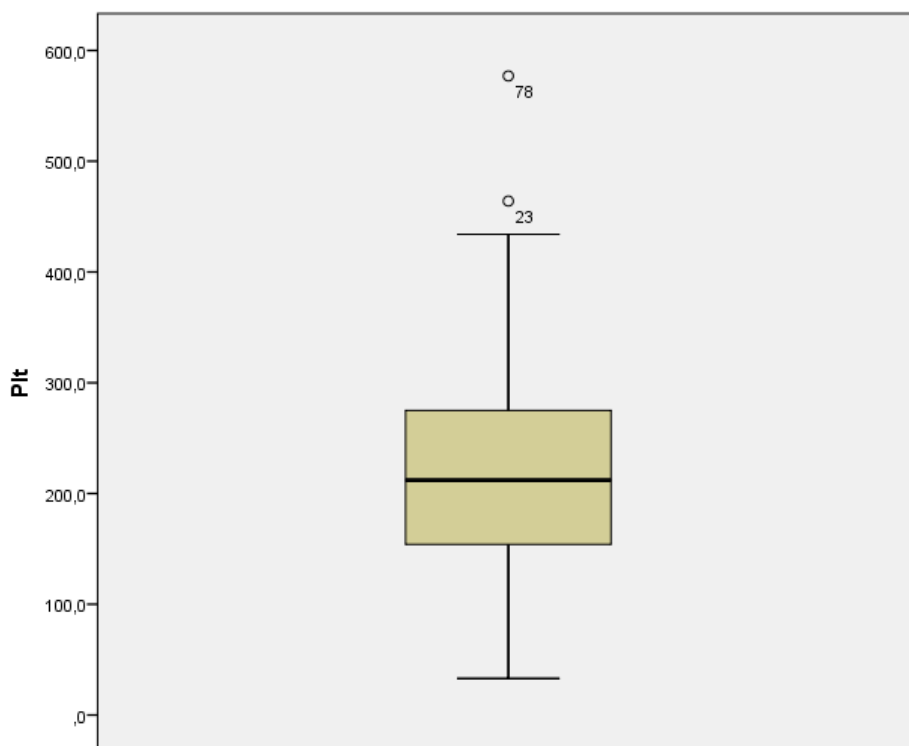
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: Del total de 171 muestras obtenidas el 92% corresponde a dengue tipo febril con una frecuencia de 79 y el 8% restante corresponde a dengue hemorrágico con frecuencia de 7. (Ver Tabla 5) (Ver Gráfico 5)

TABLA 6
ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Plt	171	33,0	577,0	213,614	88,6718
N válido (por lista)	171				

GRÁFICO 6



Fuente: Hospital Básico IESS Ancón

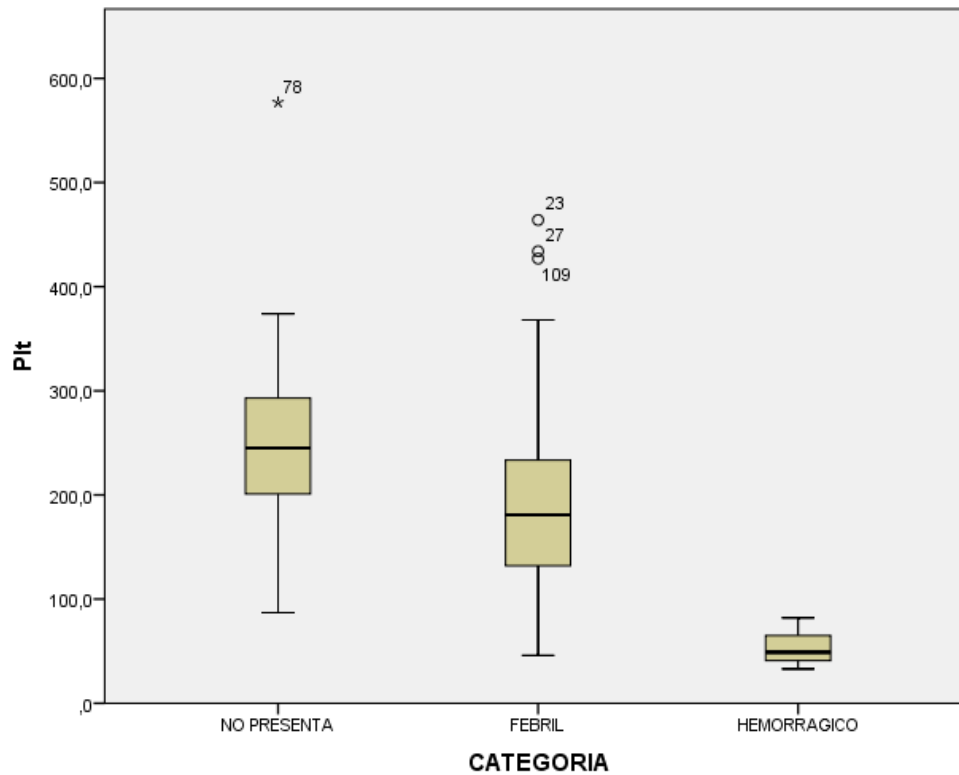
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: En relación con el conteo de plaquetas de la población tenemos una media de $213,614 \pm 88,6718$ con un valor mínimo de 33 y máximo de 577 con un rango de 543. (Ver Tabla 6) (Ver Gráfico 6)

TABLA 7
VALORES DE PLATELETCRIT

		PLATELETCRIT
		Media
CATEGORIA	NO PRESENTA	,247
	FEBRIL	,192
	HEMORRAGICO	,054

GRÁFICO 7



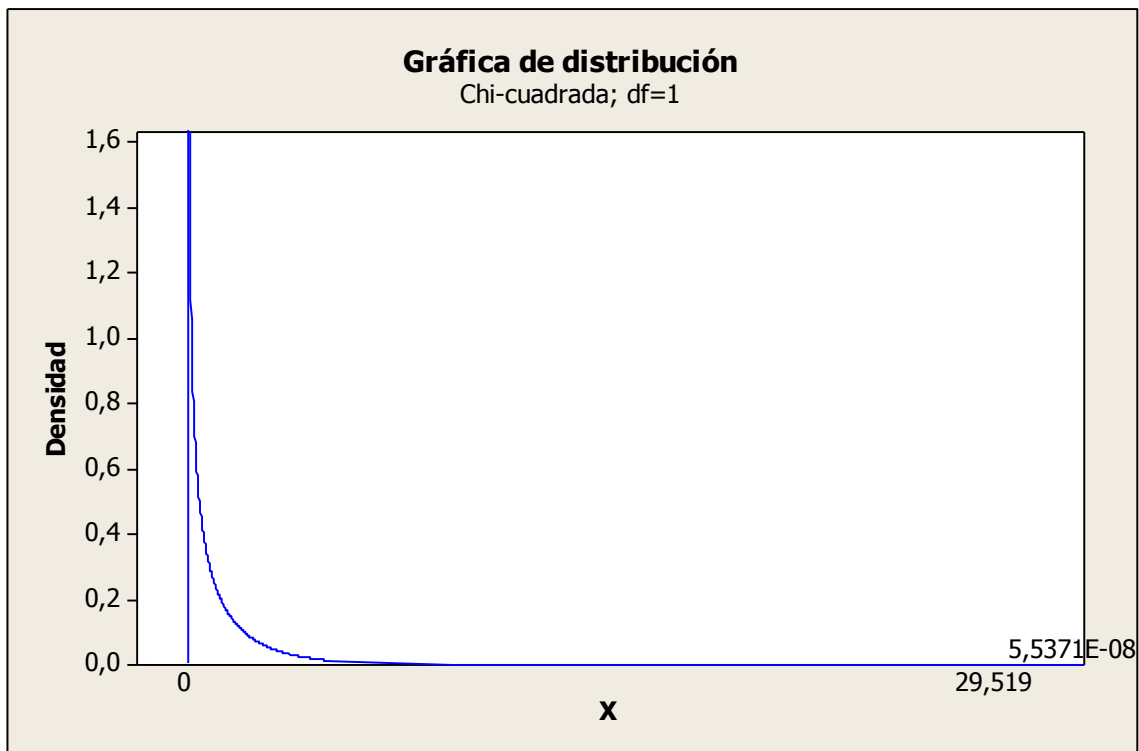
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: La media de plateletcrit en los controles fue de 0,247, mientras que en el dengue febril de 0,19 y en el dengue hemorrágico de 0,054. (Ver Tabla 7) (Ver Gráfico 7)

TABLA 8
CHI-CUADRADO DE PEARSON

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	29,519	1	,000

GRÁFICO 8



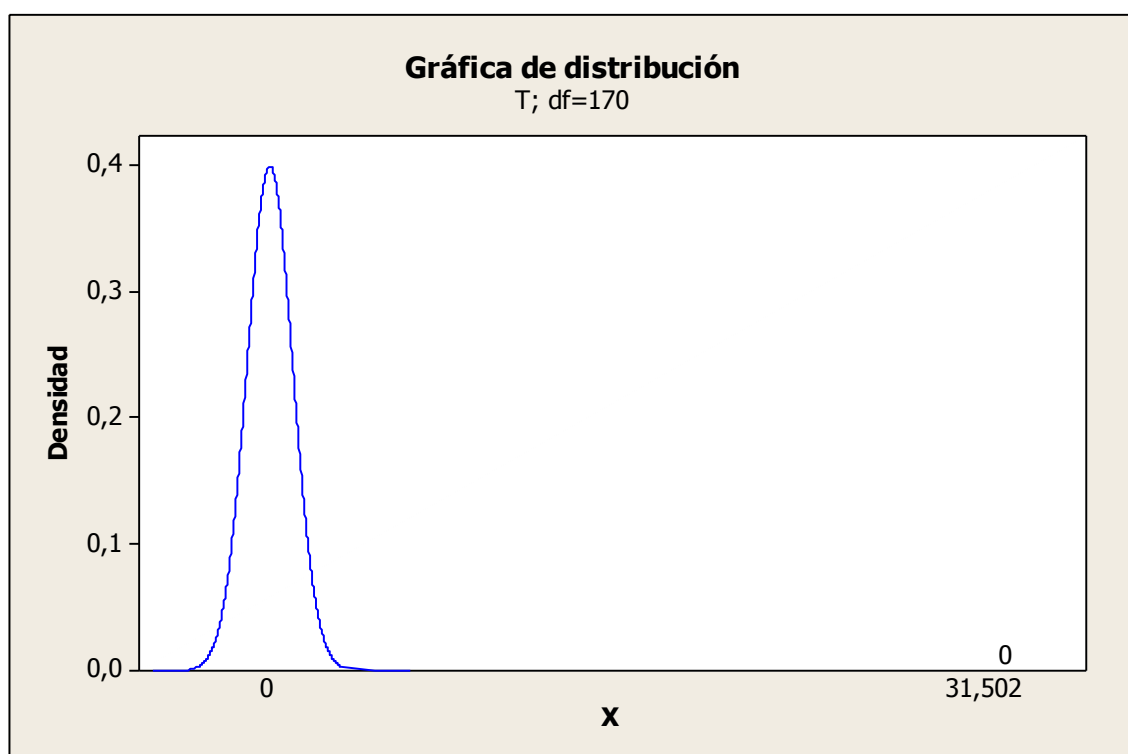
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: El valor de plateletcrit tiene significación estadística con el dengue y el tipo de dengue siendo el valor inversamente proporcional con la posibilidad de dengue hemorrágico, es decir que mientras más bajo sea el valor de plateletcrit mayores son las posibilidades de que el paciente posea dengue hemorrágico. (Ver Tabla 8) (Ver Gráfico 8)

TABLA 9
PRUEBA T-student

	Valor de prueba = 0					
	T	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
CATEGORIA	12,345	170	,000	,5439	,457	,631
PLATELETCRIT	31,502	170	,000	,213614	,20023	,22700

GRÁFICO 9



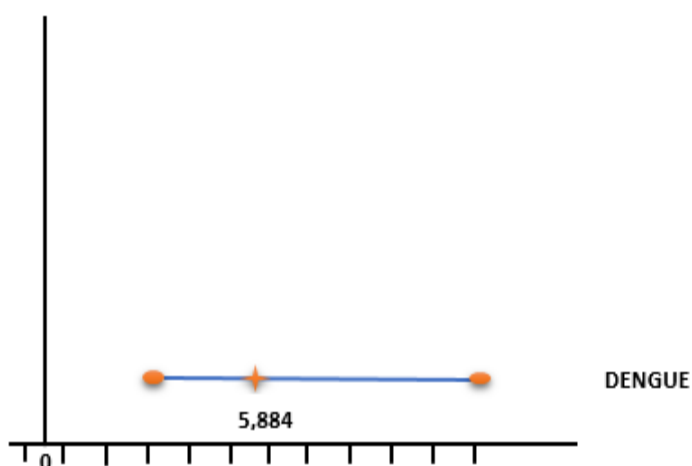
Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: En el grafico se muestra una fuerte asociación con los valores medios de plateletcrit y plaquetas ($p= 0.0001$). (Ver **Tabla 9**)

TABLA 10
ESTIMACIÓN DE RIESGO

	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para DENGUE (NEGATIVO / POSITIVO)	5,884	3,039	11,392

GRÁFICO 10



Fuente: Hospital Básico IESS Ancón
Elaborado por: Guerrero, M.

INTERPRETACIÓN: Se espera que por cada 100 pacientes diagnosticados por dengue 8 sean hemorrágicos. El valor de plateletcrit se relaciona de una forma inversamente proporcional con la probabilidad de tener dengue y existe un 58% de probabilidades de que si el valor es $< 0,19$ de plateletcrit sea hemorrágico. (Ver **Tabla 10**)

4.2.CONCLUSIONES:

- Se realizó la curva de distribución plaquetaria o plateletcrit en pacientes con dengue y se relación con el tipo de dengue tanto clásico como hemorrágico en los pacientes que asistieron al Hospital Básico IESS Ancón.
- Se determinó la presencia de anticuerpos contra dengue con el test OnSite Dengue IgG/IgM Combo rapid test y sus niveles plaquetarios en los pacientes.
- Se realizó la curva de distribución plaquetaria o Plateletcrit en los pacientes control y en los afectados por el virus para determinar la relación de estos.
- Correlacionamos la curva de distribución plaquetaria o Plateletcrit con el tipo de dengue de los pacientes con dengue y en pacientes sanos.
- La mayor parte de análisis positivos corresponden al grupo etario de adultos siendo estos los más afectados por el virus del dengue febril que del tipo hemorrágico al igual que lo mencionan resultados de estudios anteriores que sugieren que los adultos son más propensos que los niños a sufrir de esta enfermedad debido a varios factores. (66)
- Se observa una mayor incidencia del virus en hombres que en mujeres, datos que lo confirma la Organización Mundial de la Salud en un artículo sobre el número de casos reportados en Asia de dengue donde menciona que los hombres son más propensos a sufrir de esta enfermedad debido a las condiciones de su trabajo. (67)
- El conteo de plaquetas en los casos fueron bajos es decir que el número de estas se encontraban bajo el valor normal, al igual que el valor del plateletcrit confirmando nuestra hipótesis de que este valor tiene una gran relevancia al momento de diagnosticar dengue hemorrágico.
- Se demostró que el valor de plateletcrit está íntimamente relacionado con el diagnóstico de dengue hemorrágico ya que mientras más bajo sea el valor de este nos confirma que el paciente posee este tipo de virus.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFIA:

- A S. Natural history of plasma leakage in dengue hemorrhagic fever: a serial ultrasonic study. In *Pediatric Infectious Disease Journal*.: 26; 2007. p. 283–290. (51)
- Ali KA, Abu elgasim S. A correlation study between clinical manifestation of dengue fever and degree of liver injury. *J Microbiol Antimicrob*. 2012; 4 (2): 45 – 48. (40)
- Amarasinghe A, Kuritsk J, Letson G, al e. Dengue virus infection in Africa. *Emerg Infect Dis*. 2011;(17 (8):1349–54). (4)
- Andrews RBM. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res*. 2004;(114: 447–453). (55)
- Arima Y, Matsui T, Shimada T, al e. Ongoing local transmission of dengue in Japan, August to September 2014. *Western Pac Surveill Response J*. 2014;(5 (4):27–9). (14)
- Balmaseda. Assessment of the World Health Organization scheme for classification of dengue severity in Nicaragua. In *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. Nicaragua: 73; 2005. p. 1059–1062. (50)
- Bhamarapravati N. Pathology and Pathogenesis of DHF. New Delhi: WHO Meeting. 1980.(35)
- Bhatt S GPBOMJFAM. The global distribution and burden of dengue. In *Nature*. p. 504-507. (20)
- Bhatt S, Gething P, Brady O, al e. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;(496 (7446):504–7). (73)
- Bhatt S, Gething P, Brady O, al e. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;(496 (7446):504–7). (1)
- Brady O, Gething P, Bhatt , Messina J, Brownstein J, Hoen A. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. In: *PLoS Negl Trop Dis*; 2012. p. 176. (21)
- Chawla P, Yadav A, Chawla V. Clinical implications and treatment of dengue. *Asian Pac J Trop Med*. 2014;(7 :169–178). (6)
- Chuang Y, Lin Y, Liu C, Liu H, Liao S, Shi M, et al. Factors contributing to the disturbance of coagulation and fibrinolysis in dengue virus infection. *J Formos Med Assoc*. 2013;(112(1): 12). (59)
- Cohen S, Halstead S. Shock associated with dengue infection. Clinical and physiologic manifestations of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *J Pediat*. 1964;(68: 448–456). (57)

- CXT P. standard tourniquet. In *Evaluation of the World Health Organization.*; 2015. p. 143-145. (48)
- Edelman R, et al. *J. Lab. Clin. Med. Evaluation of the plasma kinin system in dengue hemorrhagic fever.* 1975;(86: 410–421). (61)
- Graham RR, Juffrie M, R Tan, Hayes CG, Laksono I, Ma'roef C, et al. Un estudio seroepidemiológico prospectivo sobre el dengue en niños de cuatro a nueve años de edad en Yogyakarta, Indonesia I. *Estudios en 1995/1996 . Am J Trop Med Hyg* 1999; 61 : 412-9 (66)
- Gubler D. Dengue and dengue Hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* 1998;(11 :480–96).(25)
- Guota E, Dar L, Kapoor G, Broor S. The changing epidemiology of dengue in delhi. India. *Viro J.* 2006;(3:92). (60)
- Gupta N, Srivastava S, Jain A, Chaturvedi U. Dengue in India. *Indian J Med Res.* 2012;(136 :373–90). (27)
- Guzmán , MG , Kouri. Dengue. In *Distrito de Infectologia.*; 2002. p. 33-42. (71)
- Guzman M, Halstead S, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler D, et al. Dengue: a continuing global thread. *Nat Rev Microbiol.* 2010;(8(12 Suppl): S7 – 16). (24)
- Guzman M, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: Lessons and challenges. *J Clin Virol.* 2003;(27:1–13). (36)
- Halstead S. Pathogenesis of dengue: Challenges to molecular biology. *Scienc.* 1988;(239:476-81). (28)
- Kraemer M, Sinka M, Duda K, al e. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae.albopictus*. *eLife.* 2015;(4 :e08347.). (74)
- Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007;(30:329–40). (42)
- Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007;(30:329–40). (29)
- La Russa V, Innis B. Mechanisms of dengue virus-induced bone marrow suppression. *Baillieres Clin. Haematol.* 1995;(8: 249–270). (70)
- Lai C.Y., Tsai W.Y., Lin S.R., Kao C.L., Hu H.P., King C.C., Wu H.C., Chang G.J., Wang W.K. Antibodies to envelope glycoprotein of dengue virus during the natural course of infection are predominantly cross-reactive and recognize epitopes containing highly conserved residues at the fusion loop of domain II. *J. Virol.* 2008;82:6631–6643. (41)
- Laoprasopwattana K, Libraty DH, Endy TP, et al. El virus del dengue (DV) mejorar la actividad de los anticuerpos en el plasma preillness no predice la gravedad de la

- enfermedad o posterior viremia en la infección secundaria DV. *J Infect Dis.* 2005; 192 (3): 510-9 (39)
- Lic.Coto.Héctor. Enfoques de la salud Ambiental. *Chemotecnica.* 2011 Marzo; VII(10). (19)
 - Linares E, Pannuti C, Kubota L, Thalhammer S. Immunospot assay based on fluorescent nanoparticles for dengue fever detection. *Biosens Bioelectron.* 2013;(41:180–5). (26)
 - Martínez-Torres E PAAPSE. Why and how children with dengue die?. In *Revista cubana de medicina tropical.* Cuba; 2008. p. 40–47. (52)
 - Mathew A, Kurane I, verde S, Vaughn DW, Kalayanaraj S, Suntayakorn S, et al. Deterioro de la proliferación de células T en la infección aguda por dengue. *J Immunol.* 1999; 162 (9): 5609-15. (43)
 - Messina J, Brady O, Scott T, al e. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol.* 2014;(22 (3):138–46). (75)
 - Michelson A. *Platelets.* Academic Press Elsevier Inc. San Diego, CA. 2007. (56)
 - Murray N, Quam M, Wilder-Smith A. Epidemiology of dengue: Past, present and future prospects. *Clin Epidemiol.* 2013;(5 :299–309). (7)
 - Naish S, Dale P, Mackenzie J, al e. Climate change and dengue: a critical and systematic review of quantitative modelling approaches. *BMC Infect Dis.* 2014;(14 :167). (76)
 - Oishi K, et al. Dengue illness: clinical features and pathogenesis. *J. Infect. Chemother.* 2007;(13: 125–133). (58)
 - P A. Journal of Immunology, complement activation, and apoptosis.. In *Dengue virus infection of human endothelial cells leads to chemokine production.*; 1998. p. 6338--6346. (54)
 - Quimi S. COMPONENTE DENGUE. Analisis de Casos. Guayaquil: Ministerio De Salud Publica, Servicio De Control De Enfermedades; 2013. Report No.: SNEM. (11)
 - Ranjit S, Kissoon N. Dengue hemorrhagic fever and shock syndromes. *Pediatr Crit Care Med.* 2011;(12:90–100). (46)
 - Ranjit S, Kissoon N. Dengue hemorrhagic fever and shock syndromes. *Pediatr Crit Care Med.* 2011;(12:90–100). (32)
 - S K. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness.. In *Journal of Infectious Diseases.*: 1997 p. 313–321. (47)
 - S. N. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. In *Clinical spectrum and management of dengue haemorrhagic fever.*; 1987. p. 392–397. (53)

- Saito M, et al. Association of increased platelet-associated immunoglobulins with thrombocytopenia and the severity of disease in secondary dengue virus infections.. Clin. Exp. Immunol. 2004;(138: 299–303). (62)
- Salud OMDl. Manifestaciones Clínicas, Transmisión. In Salud OMDl. DENGUE GUIAS PARA EL DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO, PREVENCIÓN Y CONTROL. Bolivia; 2009. p. 14-20. (34)
- San Martín J, Brathwaite O, Zanbrano B, Solorzano J, Bouckennooghe A, Dayan G, et al. The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: A worrisome reality. Am J Tropical Med Hyg. 2010;(82 :128–35). (68)
- Sessions O, Khan K, Hou Y, et al. Exploring the origin and potential for spread of the 2013 dengue outbreak in Luanda, Angola. Glob Health Action. 2013;(6 :21822). (3)
- Shamimul H, et al. Dengue virus: A global human threat: Review of literature. J Int Soc Prev Community Dent. 2016;(6(1): 1–6). (37)
- Simmons C, Farrar J, Nguyen V, Wills B. Dengue. N Engl J Med. 2012;(366:1423–32). (69)
- Simmons C, Farrar J. Changing Patterns of Dengue Epidemiology and Implications for Clinical Management and Vaccines. PLoS Med. 2009;(6 :e1000129). (5)
- Thomas E, John M, Bhatia A. Mucocutaneous manifestations of dengue viral infection in Punjab. Int J Dermatol. 2007;(46:715–19). (30)
- Tomasello D, Schlagenhauf P. Chikungunya and dengue autochthonous cases in Europe, 2007-2012. Travel Med Infect Dis. 2013;(11 (5):274–84). (13)
- Tricou V, Vu H, Quynh N, Nguyen C, Tran H, Farrar J, et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. BMC Infect Dis. 2010;(10 :142). (17)
- Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, Katsibourlia E, Tsikopoulou F, Labrianou I. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. HIPPOKRATIA. 2010;(14 (1): 28-32). (63)
- Vaughn DW, Verde S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. El dengue título de la viremia, patrón de respuesta de anticuerpos, y el serotipo del virus se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. J Infect Dis. 2000; 181 (1): 2-9 (67)
- Whitehorn J, Simmons C. The pathogenesis of dengue. Vaccine. 2011;(29 :7221–8). (31)
- WHO. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control: New Edition. Geneva: World Health Organization; 2009. (2)
- Wilder-Smith A, Quam M, Sessions O, et al. The 2012 dengue outbreak in Madeira: exploring the origins. Euro Surveill. 2014;(19 (8):20718). (15)

- Wong W, Krupin O, Sekaran S, Mahamd F, Adikan F, Berini P. Serological Diagnosis of Dengue Infection in Blood Plasma Using Long-Range Surface Plasmon Waveguides. *Anal Chem.* 2014;(86 :1735–1743). (16)
- Wu S, Grouard-Vigel G, Sun W, Mascola J, Brachel E, Putvatana R, et al. Human skin langerhans cells are targets of dengue virus infection. *Nat Med.* 2000;(6 :816–20). (33)

LINKOGRAFIA:

- Crespo B. [Ecuavisa].; 2014 [cited 2016 Febrero 12. Available from: <http://www.ecuavisa.com/articulo/noticias/actualidad/53435-guayaquil-ya-se-registran-166-casos-dengue>. (12)
- Guillermo GM, Angel GM, Mario Z, Nicolas V. *Acta Neurologica Colombiana.* [Online].; 2015 [cited 2016 Febrero 10. Available from: <http://www.acnweb.org/es/acta-neurologica/volumen-31-2015/159-volumen-31-no-1-enero-marzo-de-2015/1113-sindrome-de-guillain-barre-causado-por-el-virus-del-dengue-a-proposito-de-dos-casos.html>. (23)
- Jaramillo A. *El Comercio.* [Online].; 2015 [cited 2016 Febrero 12. Available from: <http://www.elcomercio.com/tendencias/dengue-zonas-vulnerabilidad-salud-ecuador.html>. (10)
- Ministerio De Salud Pública. Casos de dengue [Online]; 2015 [cited 2016 Junio. Available from: <http://www.salud.gob.ec/casos-de-dengue-se-reducen-en-un-22-en-ecuador-con-corte-a-finales-de-mayo/> (78)
- Ministerio De Salud Pública. Situación de dengue en el Ecuador [Online].]; 2015 [cited 2016 Mayo. Available from: <http://www.salud.gob.ec/ministra-de-salud-informo-situacion-de-dengue-y-chikungunya-en-ecuador/> (77)
- Organización Mundial de la Salud. El dengue y la fiebre hemorrágica del dengue grave. Disponible en :<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> . Visitado el 23 de febrero de 2016.(38)
- Organization WH. Factsheet. [Online].; 2008 [cited 2016 Febrero 13. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>. (45)
- Pública MdS. Ministerio De Salud Publica. [Online].; 2013 [cited 2016 Febrero 11. Available from: <http://www.salud.gob.ec/casos-de-dengue-se-reducen-en-un-22-en-ecuador-con-corte-a-finales-de-mayo/>. (9)
- Revista Scielo. Virus del Dengue Estructura y ciclo viral [Online]; 2011[cited 2016 Julio. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v15n1/v15n1a06.pdf> (44)

- Rousseau JJ. Webmaster SPPS. [Online].; 2013 [cited 2016 Febrero 10. Available from: <http://www.spps.gob.mx/avisos/1664-dengue-donde-viene-donde-va.html>. (18)
- UCLA, Centro de Investigación en Pólizas en salud. [Online].; 2016 [cited 2016 Junio. Available from: http://healthpolicy.ucla.edu/programs/health-data-espanol/Documents/apendice_D_elaborando.pdf. (64)
- Vance V. Ministerio De Salud Publica. [Online].; 2015 [cited 2016 Febrero 11. Available from: <http://www.salud.gob.ec/ministra-de-salud-informo-situacion-de-dengue-y-chikungunya-en-ecuador/>. (8)

BIBLIOGRAFÍAS BASE DE DATOS UTA:

- **PESQUESIA.**- Arshad, Abdul Rehman. Trombocitopenia en la malaria: ¿pueden los recuentos de plaquetas diferenciar la malaria de otras infecciones? [Online] 2015 [cited 2016 Mayo. Available from: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-25604366> (49)
- **PROQUEST.**- Eveny Cristine Luna de Oliveira ; Elenir Rose Jardim Cury Pontes; Anomalías hematológicas en pacientes con dengue. Revista de la Sociedad Brasileña de Medicina Tropical. 2009; 6 (22). <http://search.proquest.com/docview/1449155601?pq-origsite=summon> (72)
- **PROQUEST.**- Ibarra, Anna MStewart; Ryan, Sadie. Dinámica del vector del dengue (*Aedes aegypti*) influenciada por factores climáticos y sociales en Ecuador. Revistas de la Universidad del Magdalena. 2013;p. 87,94 <http://search.proquest.com/docview/1834013422?pq-origsite=summon> (65)
- **PROQUEST.**- Silva, Erica Maria da ; Bonfim, Cristine Vieira. Perfil del hemograma y transaminasas en el dengue Acta Scientiarum. Ciencias de la Salud;201; 1 (37) <http://search.proquest.com/docview/1807357362?pq-origsite=summon> (79)

ANEKOS

ANEXO 1
HOJA DE ASISTENCIA



Tema: “DETERMINACION DE LA CURVA DE DISTRIBUCION PLAQUETARIA EN PACIENTES CON DENGUE Y SU RELACION CON EL TIPO DE DENGUE”

Graduando: Mayra Alexandra Guerrero Fuentes

FECHA	HORA DE ENTRADA	HORA DE SALIDA	Nº DE HORAS	FIRMA	OBSERVACIONES
TOTAL DE HORAS					

.....
 Firma del Graduando

.....
 Firma jefe de Laboratorio

Elaborado: Guerrero, M

ANEXO 2
LIBRO DE REGISTRO DIARIO

LIBRO DE REGISTRO DIARIO

FECHA	CODIGO	NOMBRE	EDAD	SEXO		EXAMENES INMUNOLÓGICOS	DÍAS DE FIEBRE
					Contaje de Plaquetas		

Elaborado: Guerrero, M

ANEXO 3
HOJA DE DATOS ESTADÍSTICOS

COD	EDAD	GRUPO ESTUDIO	SEXO	DENGUE	Plt	MPV	PLATELETCRIT	RANGO PLATELETCRIT	HORAS DE FIEBRE	CATEGORIA
1	17	2	1	1	49	10.2	0,05	1	2	2
2	16	2	1	0	158	10.1	0,16	1	0	0
3	58	3	1	1	235	10.2	0,24	0	2	1
4	35	3	1	0	212	9.9	0,21	0	0	0
5	55	3	2	1	110	10	0,11	1	2	1
6	27	3	1	0	168	10.1	0,17	1	0	0
7	60	3	1	1	100	10	0,10	1	2	1
8	48	3	1	0	229	10	0,23	0	0	0
9	51	3	1	1	182	9.8	0,18	1	2	1
10	30	3	1	0	159	10	0,16	1	0	0
11	31	3	2	1	103	9.7	0,10	1	2	1
12	26	3	1	0	152	9.8	0,15	1	0	0
13	39	3	1	1	47	10.6	0,05	1	2	1
14	41	3	1	0	251	9.9	0,25	0	0	0
15	5	1	2	1	84	9.5	0,08	1	2	1
16	3	1	1	0	344	9.8	0,34	0	0	0
17	11	2	1	1	346	10.1	0,35	0	2	1
18	16	2	1	0	158	10.1	0,16	1	0	0
19	32	3	1	1	125	10.4	0,13	1	2	1
20	27	3	1	0	168	10.1	0,17	1	0	0
21	27	3	1	1	143	9.7	0,14	1	2	1
22	48	3	1	0	229	10.04	0,23	0	0	0
23	12	2	1	1	464	9.9	0,46	1	1	1
24	30	3	1	0	159	10	0,16	1	0	0

25	40	3	1	1	137	10.2	0,14	1	2	1
26	18	2	1	0	87	10.3	0,09	1	0	0
27	21	2	1	1	434	9.9	0,43	1	2	1
28	35	3	1	0	212	9.9	0,21	0	0	0
29	18	2	1	1	56	10.7	0,06	1	2	2
30	26	3	1	0	152	9.8	0,15	1	0	0
31	10	2	1	1	76	10.5	0,08	1	2	1
32	49	3	2	0	121	9.9	0,12	1	0	0
33	65	4	2	1	111	9.9	0,11	1	1	1
34	54	3	1	0	210	10	0,21	0	0	0
35	51	3	1	1	155	10.3	0,16	1	2	1
36	8	1	2	0	312	9.9	0,31	0	0	0
37	17	2	2	1	148	10.1	0,15	1	2	1
38	34	3	2	0	275	10.1	0,28	0	0	0
39	56	3	2	1	361	9.9	0,36	0	2	1
40	30	3	2	0	228	10	0,23	0	0	0
41	42	3	1	1	112	9.8	0,11	1	2	1
42	56	3	1	0	372	9.9	0,37	1	0	0
43	63	3	2	1	203	9.8	0,20	0	1	1
44	23	3	2	0	304	9.8	0,30	1	0	0
45	10	2	1	1	44	9	0,04	1	2	2
46	22	3	1	0	261	9.9	0,26	0	0	0
47	26	3	1	1	82	9.7	0,08	1	2	2
48	48	3	2	0	313	9.9	0,31	0	0	0
49	39	3	2	1	197	10.1	0,20	1	2	1
50	41	3	1	0	276	10.1	0,28	0	0	0
51	20	3	1	1	38	10.5	0,04	1	2	2

52	26	3	2	0	245	10.2	0,25	0	0	0
53	8	1	2	1	231	9.9	0,23	0	2	1
54	42	3	1	0	161	9.9	0,16	1	0	0
55	12	2	1	1	171	9.9	0,17	1	2	1
56	13	2	1	0	204	9.8	0,20	1	0	0
57	45	3	2	1	241	9.9	0,24	0	2	1
58	35	3	2	0	310	10	0,31	0	0	0
59	16	2	2	1	219	10	0,22	1	2	1
60	15	2	1	0	179	10	0,18	1	0	0
61	25	3	1	1	246	10.1	0,25	0	2	1
62	12	2	2	0	191	9.9	0,19	1	0	0
63	71	4	1	1	147	10.2	0,15	1	2	1
64	7	1	2	0	201	9.9	0,20	1	0	0
65	56	3	2	1	183	9.8	0,18	1	2	1
66	5	1	2	0	299	10	0,30	0	0	0
67	33	3	1	1	181	9.9	0,18	1	2	1
68	27	3	1	0	191	9.9	0,19	1	0	0
69	38	3	1	1	95	10.5	0,10	1	2	1
70	10	2	1	0	222	9.9	0,22	0	0	0
71	15	2	1	1	74	9.4	0,07	1	2	2
72	57	3	2	0	285	10.1	0,29	0	0	0
73	17	2	1	1	178	10.1	0,18	1	2	1
74	33	3	1	0	325	10.1	0,33	0	0	0
75	14	2	2	1	132	9.8	0,13	1	2	1
76	2	1	2	0	241	9.9	0,24	0	0	0
77	42	3	1	1	249	10	0,25	0	2	1
78	7m	1	1	0	577	10	0,58	1	0	0

79	69	4	2	1	206	10.1	0,21	1	2	1
80	43	3	2	0	310	10	0,31	0	0	0
81	33	3	2	1	275	10.1	0,28	0	1	1
82	3	1	2	0	281	9.9	0,28	0	0	0
83	17	2	2	1	153	9.8	0,15	1	2	1
84	37	3	2	0	317	10	0,32	0	0	0
85	28	3	2	1	83	9.6	0,08	1	2	1
86	19	2	2	0	228	10	0,23	0	0	0
87	55	3	2	1	232	9.9	0,23	0	2	1
88	51	3	2	0	266	10.1	0,27	0	0	0
89	13	2	2	1	164	9.7	0,16	1	1	1
90	51	3	2	0	224	9.8	0,22	0	0	0
91	12	2	2	1	138	10.1	0,14	1	2	1
92	41	3	2	0	219	10	0,22	0	0	0
93	34	3	2	1	247	10.1	0,25	0	2	1
94	72	4	2	0	288	10	0,29	0	0	0
95	13	2	1	1	113	9.7	0,11	1	2	1
96	77	4	1	0	176	10.2	0,18	1	0	0
97	69	4	1	1	174	9.7	0,17	1	1	1
98	77	4	2	0	219	10	0,22	0	0	0
99	31	3	2	1	246	10.1	0,25	0	2	1
100	54	3	2	0	255	10.1	0,26	0	0	0
101	25	3	2	1	120	10	0,12	1	2	1
102	55	3	2	0	334	9.8	0,33	0	0	0
103	62	3	2	1	204	9.8	0,20	1	2	1
104	29	3	1	0	206	10.1	0,21	0	0	0
105	61	3	2	1	222	9.9	0,22	1	1	1

106	37	3	2	0	374	9.8	0,37	1	0	0
107	17	2	2	1	153	9.8	0,15	1	2	1
108	31	3	1	0	232	9.9	0,23	0	0	0
109	38	3	2	1	427	10	0,43	1	2	1
110	53	3	2	0	187	10.1	0,19	1	0	0
111	25	3	1	1	199	10	0,20	1	2	1
112	7	1	1	0	311	9.9	0,31	0	0	0
113	13	2	2	1	164	9.7	0,16	1	2	1
114	27	3	2	0	280	10	0,28	0	0	0
115	9	1	1	1	266	10.1	0,27	0	2	1
116	23	3	2	0	257	10.1	0,26	0	0	0
117	71	4	2	1	171	9.9	0,17	1	2	1
118	71	4	2	0	297	10.1	0,30	0	0	0
119	74	4	2	1	221	9.9	0,22	1	2	1
120	61	3	2	0	207	10.1	0,21	0	0	0
121	8	1	1	1	184	9.7	0,18	1	2	1
122	75	4	1	0	293	9.8	0,29	0	0	0
123	15	2	2	1	172	9.8	0,17	1	2	1
124	74	4	2	0	255	10.1	0,26	0	0	0
125	14	2	1	1	290	10	0,29	0	2	1
126	40	3	2	0	280	10	0,28	0	0	0
127	9	1	1	1	240	10	0,24	0	2	1
128	33	3	2	0	278	10	0,28	0	0	0
129	39	3	2	1	229	10	0,23	0	2	1
130	39	0	2	0	281	9.9	0,28	0	0	0
131	42	3	1	1	238	10	0,24	0	2	1
132	67	4	2	0	180	10	0,18	1	0	0

133	30	3	1	1	191	9.9	0,19	1	2	1
134	50	3	1	0	300	10	0,30	0	0	0
135	16	2	2	1	144	9.7	0,14	1	2	1
136	39	3	2	0	279	10	0,28	0	0	0
137	13	2	2	1	88	10.2	0,09	1	2	1
138	7m	1	2	0	363	9.9	0,36	0	0	0
139	10	2	2	1	33	9	0,03	1	2	2
140	4	1	2	0	334	9.8	0,33	0	0	0
141	21	3	1	1	178	10.1	0,18	1	2	1
142	46	3	2	0	238	10	0,24	0	0	0
143	27	3	1	1	123	9.7	0,12	1	2	1
144	29	3	2	0	284	9.8	0,28	0	0	0
145	56	3	2	1	328	10	0,33	0	2	1
146	86	4	1	0	122	9.8	0,12	1	0	0
147	32	3	2	1	212	9.9	0,21	0	2	1
148	55	3	2	0	209	10	0,21	0	0	0
149	26	3	1	1	345	10.1	0,35	1	1	1
150	16	2	1	0	273	9.8	0,27	0	0	0
151	52	3	2	1	74	9.4	0,07	1	2	1
152	66	4	1	0	192	9.8	0,19	1	0	0
153	4	1	1	1	223	9.8	0,22	0	2	1
154	88	4	1	0	143	9.7	0,14	1	0	0
155	36	3	2	1	119	10	0,12	1	1	1
156	69	4	2	0	297	10.1	0,30	0	0	0
157	12	2	1	1	368	10	0,37	0	2	1
158	43	3	2	0	169	10	0,17	1	0	0
159	20	3	1	1	109	10	0,11	1	2	1

160	37	3	2	0	269	10	0,27	0	0	0
161	25	3	1	1	216	10.1	0,22	0	0	1
162	52	3	2	0	304	9.8	0,30	0	0	0
163	29	3	1	1	192	9.8	0,19	1	2	1
164	50	3	1	0	277	10.1	0,28	0	0	0
165	30	3	2	1	248	10	0,25	0	2	1
166	34	3	2	0	225	10.2	0,23	0	0	0
167	57	3	1	1	46	10.8	0,05	1	2	1
168	92	4	1	0	329	10	0,33	0	0	0
169	59	3	1	1	145	10.3	0,15	1	2	1
170	12	2	2	0	211	9.9	0,21	0	0	0
171	55	3	2	1	132	9.8	0,13	1	2	1

OBSERVACIÓN	# pares = casos
	# impares = controles

Elaborado: Guerrero, M

ANEXO 4
INTERPRETACIÓN DE DATOS ESTADÍSTICOS

EDAD	GRUPO ESTUDIO	SEXO	DENGUE	Plt	MPV	PLATELETCRIT	RANGO PLATELETCRIT	HORAS DE FIEBRE	CATEGORIA
# entero	1= niños (0-9 años)	1= H	IgG + =1	# entero/mm ³	#/fl	# entero (%)	0 = normal	< 24 = 0	0 = No Dengue
	2= adolescentes (>9 -<19)	2= M	IgG - =0				1 = anormal	24-72 =1	1 = Clásico
	3= adultos (> 19 - < 64)							> 72 = 2	2 = Hemorrágico
	4= ancianos (> 65 años)								

Elaborado: Guerrero, M

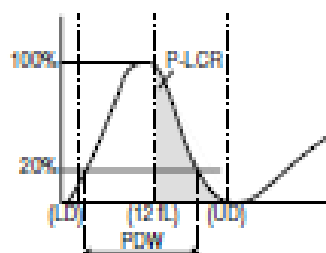
ANEXO 5

***HOJA GUIA PARA FORMULA DEL
EQUIPO***

SYSMEX XS.200i

2. P-LCR (Proporción de plaquetas grandes en el número total de plaquetas)

P-LCR es la proporción de plaquetas grandes, a partir del discriminador de 12 fL o más. Se calcula como proporción entre el número de partículas situadas entre el discriminador fijo y el UD, por una parte, y el número de partículas entre el LD y el UD, por otra.



3. MPV (volumen plaquetario medio)

El valor de MPV se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$MPV (fL) = \frac{PCT (\%)}{PLT (\times 10^9/\mu L)} \times 1000$$

PCT: PCT es el llamado hematocrito plaquetario o proporción de volumen de plaquetas, y se pondera hacia la frecuencia de PLT, called the platelet hematocrit or platelet volume ratio, and is weighted toward the PLT frequency.

c. Expresión de la distribución de tamaños de partícula

Según la forma de expresarla, la impresión proporcionada por una distribución de tamaños de partícula puede ser muy distinta. La anchura de una distribución de tamaños de partículas merece especial atención, ya que su aspecto puede ser completamente distinto según la forma de expresarla.

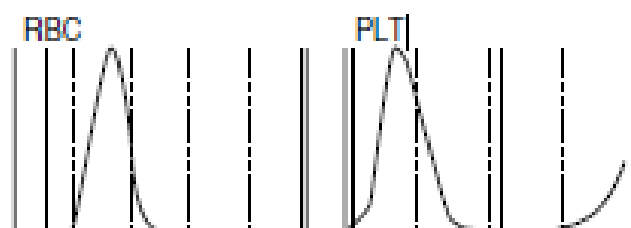
El XS-1000i/XS-800i emplea una expresión convencional del tamaño de partículas (expresión normalizada) y una expresión del tamaño de partículas que permite al usuario obtener intuitivamente de la misma una gran cantidad de información (expresión con intervalos normales de tamaños de células).

1. Expresión normal

Este método proporciona una expresión normalizada de la distribución estableciendo como máximo de la escala el pico de la distribución de tamaños de partículas (máxima altura al mostrar la distribución de tamaño de partículas).

• **Características:** Es posible visualizar con la misma escala distribuciones de tamaños de partículas para recuentos totales distintos. Es posible comparar intuitivamente las distribuciones de tamaño de las partículas.

• **Curvas a las que puede aplicarse:** Distribuciones de tamaño de partículas para eritrocitos y plaquetas



ANEXO 6

***INSERTO OnSite Dengue IgG/IgM
Combo rapid test***



REF
 Catalog Number R0061C
IVD
 In vitro Diagnostic

INTENDED USE

The **Omsite Dengue IgG/IgM Combo Rapid** is a lateral flow immunoassay for the simultaneous detection and differentiation of IgG and IgM antibodies to dengue virus (DENV 1, DENV 2, DENV 3, and DENV 4) in human serum, plasma or whole blood. It is intended to be used as a screening test and as an aid in the diagnosis of infection with dengue viruses. Any reactive specimens with the **Omsite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test** must be confirmed with alternative testing methods(s).

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

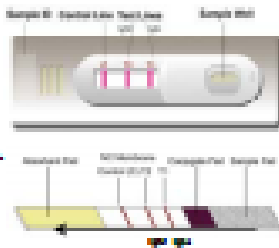
Dengue viruses, a family of four distinct serotypes of viruses (DENV 1,2,3,4), are single-stranded, enveloped, positive-sense RNA viruses. The viruses are transmitted by mosquitoes of the daybiting *Aedes* genus, principally *Aedes aegypti*, and *Aedes albopictus*. Today, more than 2.5 billion people living in the areas of tropical Asia, Africa, Australia, and the Americas are at risk for dengue infection. An estimated 100 million cases of dengue fever and 20,000 cases of debilitating dengue hemorrhage occur annually on a worldwide basis.^{1,2}

Serological detection is a common method for the diagnosis of infection with dengue viruses. IgM antibodies to dengue virus start to appear at 3 days after initial exposure and remain in the circulation for about 30-60 days. IgG antibodies to dengue virus start at around 7 days, peak at 3-6 weeks, and persist for life.^{3,4}

The **Omsite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test** detects IgG and IgM antibodies to dengue virus within 10 minutes. The test is conveniently utilized for use in a wide range of laboratory equipment.

TEST PRINCIPLE

The **Omsite Dengue IgG/IgM Rapid Test** is a lateral flow chromatographic immunoassay. The test cassette consists of (1) a burgundy colored conjugate pad containing dengue recombinant envelope antigens conjugated with colored gold (dengue conjugates) and (2) a nitrocellulose membrane strip containing two test bands (T1 and T2 bands) and a control band (C band). The T1 band is pre-coated with the antibody for the detection of IgG antibodies to dengue virus, T2 band is coated with antibody for the detection of IgM antibodies to dengue virus, and the C band is pre-coated with gold and rabbit IgG.



When an adequate volume of test specimen is dispensed into the sample well of the test cassette, the specimen migrates by capillary action across the cassette. IgG antibodies to dengue virus if present in the specimen will bind to the dengue conjugates. The immunocomplex is then captured by the reagent pre-coated on the T1 band, forming a burgundy colored T1 band, indicating a dengue virus IgG positive test result and suggesting a recent or repeat infection.

IgM antibodies to dengue virus, if present in the specimen, will bind to the dengue conjugates. The immunocomplex is then captured by the reagent pre-coated on the T2 band, forming a burgundy colored T2 band, indicating a dengue virus IgM positive test result and suggesting a fresh infection.

Absence of any T bands (T1 and T2) suggests a negative result.

The test contains an internal control (C band) which should exhibit a burgundy colored band of the immunocomplex of gold and rabbit IgG-coated dengue conjugates regardless of the color development on any of the T bands. Otherwise, the test result is invalid and the specimen must be retested with another device.

REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED

- Each kit contains 20 test devices, each sealed in a foil pouch with three items inside:
 - One cassette device.
 - One pipette dropper.
 - One desiccant.
- Sample Diluent (1 bottle, 8 mL)
- One Package Insert (instructions for use).

MATERIALS MAY BE REQUIRED AND AVAILABLE FOR PURCHASE

- Positive Control (1 vial, red cap, 1 mL, Cat # R0071-C)
- Negative Control (1 vial, green cap, 1 mL, Cat # R0071-N)

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Check or Timer

WARNINGS AND PRECAUTIONS

For In Vitro Diagnostic Use

- This package insert must be read completely before performing the test. Failure to follow the procedures required in the insert gives inaccurate test results.
- Do not open the sealed pouch, unless ready to certified the assay.
- Do not use expired devices.
- Bring all reagents to room temperature (18°C-30°C) before use.

- Do not use the components in any other type of test kit as a substitute for the components in this kit.
- Do not use formalized blood specimen for testing.
- Wear protective clothing and disposable gloves while handling the kit reagents and clinical specimens. Wash hands thoroughly after performing the test.
- Users of this test should follow the US CDC Universal Precautions for prevention of transmission of HIV, HBV and other bloodborne pathogens.
- Do not smoke, drink, or eat in areas where specimens or kit reagents are being handled.
- Dispose of all specimens and materials used to perform the test as biohazardous waste.
- Handle the Negative and Positive Control in the same manner as patient specimens.
- The testing results should be read within 10 minutes after a specimen is applied to the sample well or sample pad of the device. Reading result after 10 minutes may give erroneous results.
- Do not perform the test in a room with strong air flow, i.e., an exhaust fan or strong air conditioning.

REAGENT PREPARATION AND STORAGE INSTRUCTIONS

All reagents are ready to use as supplied. Store unopened test devices unopened at 2°C-8°C. The positive and negative controls should be kept at 2°C-8°C. If stored at 2°C-8°C, ensure that the test device is brought to room temperature before opening. The test device is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. Do not freeze the kit or expose the kit over 30°C.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Consider any materials of human origin as infectious and handle them using standard biosecurity procedures.

Blood

- Collect blood specimen into a heparin, blue or green top collection tube (containing EDTA, citrate or heparin, respectively in Vacutainer®) by venipuncture.
- Separate the plasma by centrifugation.
- Carefully withdraw the plasma into new pre-labeled tube.

Serum

- Collect blood specimen into a red top collection tube (containing no anticoagulants in Vacutainer®) by venipuncture.
- Allow the blood to clot.
- Separate the serum by centrifugation.
- Carefully withdraw the serum into a new pre-labeled tube.

Test specimens as soon as possible after collecting. Store specimens at 2°C-8°C if not tested immediately. Specimens can be stored at 2°C-8°C up to 8 days. The specimens should be frozen at -20°C for longer storage.

Avoid multiple freeze-thaw cycles. Prior to testing, bring frozen specimens to room temperature slowly and mix gently. Specimens containing visible particulate matter should be clarified by centrifugation before testing. Do not use samples demonstrating gross hemolysis, gross hemolysis or turbidity in order to avoid interference on result interpretation.

Urine

Urine of whole blood can be obtained by either finger tip puncture or venipuncture. Do not use any formalized blood for testing.

Whole blood specimens should be stored in refrigeration (2°C-8°C) if not tested immediately. The specimens must be tested within 24 hours of collection.

ASSAY PROCEDURE

- Bring the specimen and test components to room temperature if refrigerated or frozen. Open (heated), mix the specimen well prior to assay.
- When ready to test, open the pouch of the reagent and remove dropper. Place the test device on a clean, flat surface.
- Be sure to label the device with specimen's ID number.
- For whole blood test**
 - Apply 1 drop of whole blood (about 20-60 µL) into the sample well.
 - Then add 1 drop (about 20-60 µL) of Sample Diluent immediately.



For serum or plasma test

- Fill the pipette dropper with the specimen.
- Holding the dropper vertically, dispense 1 drop (about 20-60 µL) of specimen into the sample well making sure that there are no air bubbles.
- Then add 1 drop (about 20-60 µL) of Sample Diluent immediately.



Step 01 Set up time.

Step 02 Results can be read in 15 minutes. Positive results can be visible in as short as 1 minute.

Don't read/read after 15 minutes. To avoid confusing also use the test device after interpreting the result. Recommendation: Take a digital photograph for record keeping.

QUALITY CONTROL

Using individual OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test cassette as described in the Assay Procedure above, run 1 Positive Control and 1 Negative Control under the following circumstances to monitor test performance:

1. A new operator uses the kit, prior to performing testing of specimens.
2. A new lot of kit is used.
3. A new shipment of kit is used.
4. The temperature used during storage of the kit falls outside of 3°C-35°C.
5. The temperature of the test area falls outside of 15°C-30°C.

Expected results are as follows:

Negative Control

Only the C band shows color development, the two T bands (T1 and T2) show no color development.



Positive Control

The C band and two T bands (T1 and T2) show color development.



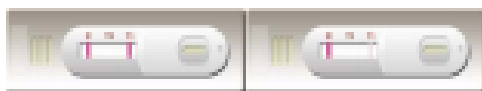
The appearance of any burgundy color in the T bands, regardless of intensity, must be considered as presence of the band.

INTERPRETATION OF ASSAY RESULT

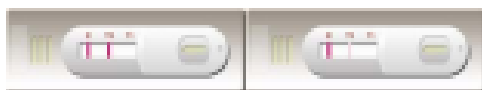
1. **NEGATIVE RESULT:** If only the C band is present, the absence of any burgundy color in the both T bands (T1 and T2) indicates that no anti-dengue virus antibodies are detected. The result is negative.



2. **POSITIVE RESULT:**
 - 2.1 In addition to the presence of C band, if only T1 band is developed, indicates for the presence of IgG anti-dengue virus. The result is positive.



- 2.2 In addition to the presence of C band, if only T2 band is developed, the test indicates for the presence of IgM anti-dengue virus. The result is positive.



- 2.3 In addition to the presence of C band, both T1 and T2 bands are developed, indicates for the presence of IgG and IgM anti-dengue virus. The result is also positive.



Results with positive results should be confirmed with alternative testing method and should confirm before a positive determination is made.

3. **INVALID:** If no C band is developed, the assay is invalid regardless of any burgundy color in the T bands as indicated below. Repeat the assay with a new device.



PERFORMANCE CHARACTERISTIC

1. Clinical Performance (Pre-Kit Test)

A total of 220 patient samples from susceptible subjects were tested by the OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test and by a commercial EIA. Comparison for all subjects is shown in the following table:

OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test			
Ind. EIA Test	Positive	Negative	Total
Positive	22	3	25
Negative	0	195	195
Total	22	197	219

Relative Sensitivity: 11.4% , Relative Specificity: 97.9%, Overall Agreement: 94.9%

2. Clinical Performance (Pre-Kit Test)

A total of 220 patient samples from susceptible subjects were tested by the OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test and by a commercial EIA. Comparison for all subjects is shown in the following table:

OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test			
IgG EIA Test	Positive	Negative	Total
Positive	20	1	21
Negative	7	193	200
Total	27	194	221

Relative Sensitivity: 92.9% , Relative Specificity: 96.9%, Overall Agreement: 94.9%

LIMITATIONS OF TEST

1. The Assay Procedure and the Test Result Interpretation must be followed closely when testing the presence of antibodies to dengue virus in serum or plasma from individual subjects. Failure to follow the procedure may give inaccurate results.
2. The OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test is limited to the qualitative detection of antibodies to dengue virus in human serum, plasma or whole blood. The intensity of the test band does not have linear correlation with the antibody titer in the specimen.
3. The OnSite Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test can not be used to differentiate if the infection is primary or secondary. For information of dengue serology can be provided with this test.
4. Serological cross reactivity with other flaviviruses is common (e.g., Japanese encephalitis, West Nile, yellow fever, etc.), therefore, it is possible that patients infected with these viruses may show some level of the reactivity with this test.
5. A negative result for an individual subject indicates absence of detectable dengue virus antibodies. However, a negative test result does not preclude the possibility of exposure to or infection with dengue virus.
6. A negative result can occur if the quantity of the dengue virus antibodies present in the specimen is below the detection limits of the assay, or the antibodies that are detected are not present during the stage of disease in which a sample is collected. Therefore, a follow up test or alternative tests such as antigen test or PCR test method is recommended if the clinical findings strongly suggest an infection or when there is an outbreak.
7. Some specimens containing unusually high titer of heterophile antibodies or rheumatoid factor may affect expected results.
8. The results obtained with this test should only be interpreted in conjunction with other diagnostic procedures and clinical findings.

REFERENCES

1. Guille C, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever: The emergence of a global health problem. Emerg Infect Dis 1996; 2(2):284-92.
2. Guille C, Trent DM. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. Infect Agents Dis 1993; 2(2):20-22
3. Stanish TP, Dengue: The risk in developed and developing countries. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(12):684-685.
4. Pitaru GG, Wilson BP. Dengue Fever, epidemiology, http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/19A14.htm, Jan, 2000.
5. Iorio M, and Nisalak 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; 40: 118-127.
6. Anonymous. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1987.

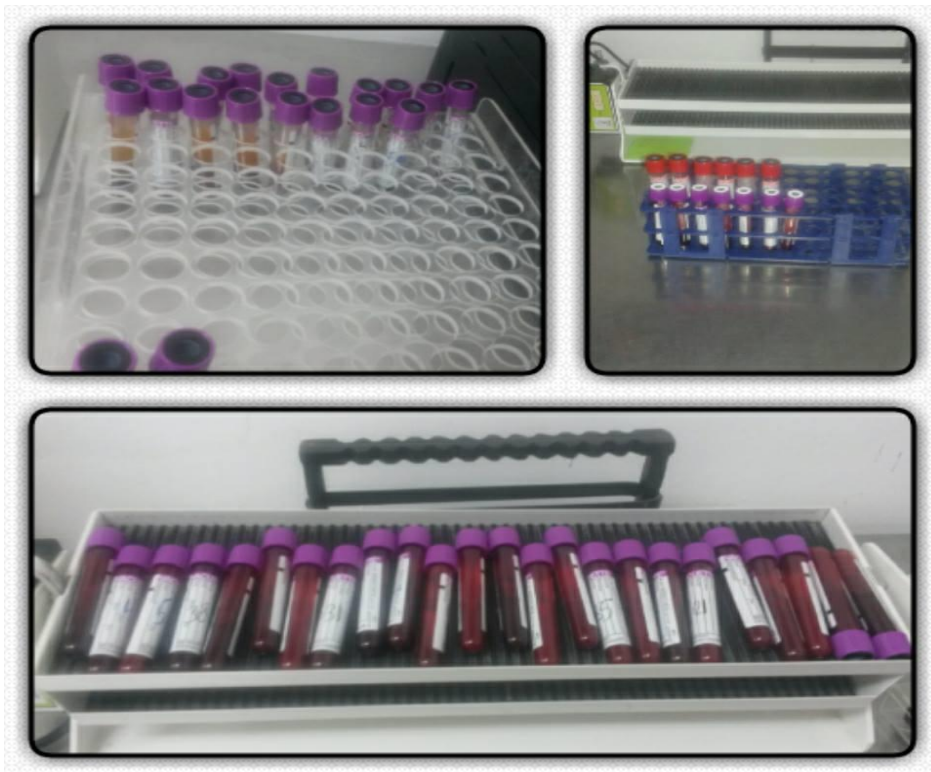
<p>ITC, Newark, Inc. 6741 Nancy Ridge Drive, Las Vegas, NV 89121 USA Tel: 702-273-6999, Fax: 702-273-1774 E-mail: info@itcusa.com</p>	<p>Cijantung II Jalanmanan 11, 194128, Medan, The Netherlands Tel: +11 (66) 614.18124</p>
--	---

PLM001C-01 Rev. C Effective date: 2009/06/10
 For Export Only, Not For Recalls in the USA.

Index of CE Symbols

	Attention, see instructions for use		For in vitro diagnostic use only
	CE mark		Lot Number
	Use by		Valid until
	Store between 2-8°C		Do not reuse
	Manufacturer		Date of manufacture

ILUSTRACIÓN 1
MUESTRAS PARA PROCESAR



Elaborado: Guerrero, M

Lugar: Laboratorio Clínico del HOSPITAL BÁSICO
IESS ANCÓN

ILUSTRACIÓN 2

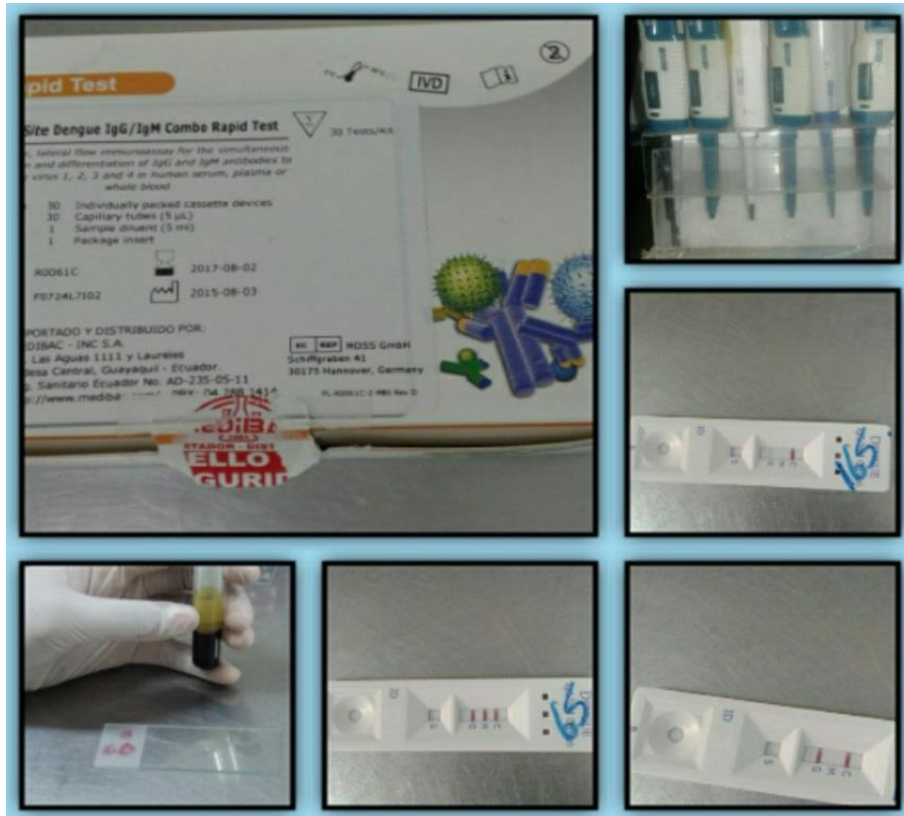
CONTAJE DE PLAQUETAS EN CAMARA DE NEUBAUER



Elaborado: Guerrero, M

Lugar: Laboratorio Clínico del HOSPITAL BÁSICO
IESS ANCÓN

ILUSTRACIÓN 3
DETECCIÓN DEL VIRUS



Elaborado: Guerrero, M
Lugar: Laboratorio Clínico del HOSPITAL BÁSICO
IESS ANCÓN