

Investigación de un brote de fiebre de origen desconocido en una localidad colombiana del Caribe

José Laguado, Microbiol.¹, Nelson Alvis, Ph.D.², Salim Máttar, Ph.D.³

RESUMEN

Objetivo. Realizar un estudio serológico de un brote de fiebre tropical de origen desconocido (FOD) en una zona del departamento de Córdoba, donde hay agentes etiológicos comunes de la región como *Plasmodium*, *Leptospira*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Brucella* y *Orienta*.

Materiales y métodos. En el municipio de Chimá (Córdoba) se presentó un brote de FOD. Los casos se recopilaron de un grupo de 209 pacientes sintomáticos que asistieron a la consulta. De ellos, en 89 (42.6%) se obtuvo información clínica, epidemiológica y exámenes paraclínicos. Para establecer la causa de la FOD, se hicieron estudios serológicos y de laboratorio para leptospirosis, dengue, salmonelosis, rickettsiosis, *Orienta*, brucelosis y malaria.

Resultados. Los siguientes síntomas y signos se presentaron en 30.4% del total de la población estudiada: cefalea (66%), artralgias (40%) fiebre y cefalea (62.9%). A pesar de serologías positivas para *Rickettsia*, *Salmonella* y *Leptospira*, se consideró que la causa de la FOD en la población fue una infección aguda producida por un flavivirus y que se sospechó como dengue. La positividad de anticuerpos anti-dengue IgM fue en 45% de los casos (40/89). La IgG se encontró en 89% de los pacientes antes negativos para IgM. Además, 44% de los pacientes fueron positivos para IgG e IgM; 30% de los casos se presentaron asociados con *Leptospira* (n=8), pero no se pudo determinar si estas infecciones fueron recientes o pasadas.

Conclusión. Después de un estudio epidemiológico, serológico y de laboratorio de siete enfermedades tropicales, se estableció que el brote de FOD se debió presumiblemente al virus de dengue.

Palabras clave: Dengue; Fiebre de origen desconocido; Flavivirus; Fiebre tropical; Serodiagnóstico.

Research of an outbreak of fever of unknown origin in a small locality in the Caribbean coast of Colombia

SUMMARY

Objective. To make an epidemiological, serological and laboratory study of a tropical fever of unknown origin (FUO) outbreak in a zone in the Cordoba department with common etiologies of the region such as *Plasmodium*, *Leptospira*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Brucella* and *Orienta*.

Materials and methods. In the municipality of Chimá (Cordoba) a FUO outbreak appeared. The cases were compiled from a group of 209 symptomatic patients who attended the consultation to general physician. From these, in 89 (42.6%) clinical, epidemiological data and laboratory examinations were obtained. In order to establish the etiology of the FUO, serological and laboratory studies were made for leptospirosis, dengue, salmonellosis, rickettsiosis, *Orienta*, brucellosis and malaria.

Results. The following symptoms appeared in 30.4% of the total of the studied population: Headache (66%), arthralgiae (40%) fever and headache (62.9%). Despite of obtaining positive serologies for *Rickettsia*, *Salmonella* and *Leptospira*, it was considered that the probable cause of the FUO in the population was an acute infection produced by a *Flavivirus* which was suspected to be dengue. The positivity of antibodies anti-dengue IgM was 45% of the cases (40/89). The IgG was in 89% of the previously negative patients for IgM. 44% of the patients were positive for IgG and IgM. 30% of the cases appeared to be associate with *Leptospira* (n=8), it was not possible to determine if the infections by *Leptospira* were recent or past.

Conclusion. After carrying out epidemiological, serological and laboratory studies of seven tropical diseases, it was established that the FUO outbreak was due presumably to the dengue virus.

1. Asistente de Investigación, Universidad de Córdoba, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Facultad de Medicina Veterinaria & Zootecnia, Montería. e-mail: jglaguado@hotmail.com

2. Investigador, Grupo de Economía de la Salud. Facultad de Ciencias Económicas. Universidad de Cartagena. e-mail: nalvis@yahoo.com

3. Director del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria & Zootecnia, Montería. e-mail: mattarsalim@hotmail.com; smattar@escarsa.net.co

Recibido para publicación diciembre 17, 2004 Aprobado para publicación octubre 26, 2005

Key words: *Dengue; Fever of unknown origin; Flavivirus; Tropical fever; Serodiagnosis.*

Las fiebres tropicales de origen desconocido se presentan como una fiebre de menos de dos semanas de duración, con síntomas y signos poco específicos como mareo, mialgia, dolor de cabeza y pérdida del apetito. Las etiologías identificadas en otros países para fiebre de origen desconocido comprenden enfermedades infecciosas, autoinmunes y neoplásicas¹. Dentro de las causas infecciosas se han descubierto bacteriemias por *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacter* y *Staphylococcus aureus* y los estudios serológicos revelan positividad para agentes como influenza, dengue, tifo murino, leptospirosis y melioidosis^{2,3}. La melioidosis es una entidad propia de roedores, semejante al muermo de los equinos, causada por *Pseudomonas pseudomallei* y que se puede transmitir al hombre. Se recomienda que los primeros análisis estén focalizados en analizar enfermedades infecciosas⁴.

La fiebre por dengue (FD) es una de las enfermedades infecciosas más comunes en países tropicales como Colombia. La FD es producida por el virus del dengue (género, *Flavivirus*, familia Flaviviridae) que tiene cuatro serotipos (DEN1, DEN2, DEN3 y DEN4) y es transmitido por mosquitos del género *Aedes*. Los síntomas clínicos del dengue pueden variar entre distintos individuos y son similares a otras enfermedades infecciosas tropicales como sarampión, rubéola, leptospirosis, salmonelosis, malaria, rickettsiosis e influenza. Estos síntomas inespecíficos incluyen fiebre, cefalea, dolor retroorbital, mialgias, artralgias, prurito, náuseas, vómito y debilidad general, con duración de 5 a 14 días^{5,6}. La respuesta inmune protectora es específica para cada uno de los serotipos del virus del dengue. Los pacientes con infecciones primarias producen una respuesta de anticuerpos tipo IgM entre 3 y 7 días después de la elevación de la fiebre, y sigue en ascenso por 1 a 3 semanas, siendo demostrable hasta por 6 a 12 meses. Los anticuerpos tipo IgG se producen aproximadamente 1 a 2 semanas después de la infección y se mantienen de por vida. En contraste con infecciones secundarias, la IgM puede tardar más en aparecer o lo hace en baja cantidad para ser descubierta, mientras que los títulos de la IgG aumentan rápido de 1 a 3 días después de la aparición de los síntomas^{7,8}.

En países donde el dengue es endémico como Colombia, hay circulación de más de un serotipo y pueden ocurrir infecciones dobles, triples y hasta cuádruples. Esto puede

ocasionar una enfermedad más severa conocida como dengue hemorrágico (DH) o fiebre hemorrágica del dengue. Se ha observado que la probabilidad de desarrollar DH o choque por dengue se aumenta hasta 15 veces en las infecciones secundarias⁹. La variación de los síntomas clínicos entre individuos depende de factores como la cepa y el serotipo del virus, el estado inmune, la edad y el perfil genético del paciente^{10,11}. En el caso de las infecciones secundarias, el riesgo de DH depende de mecanismos como la infección y el aumento de anticuerpos, la activación de complemento mediante complejos virus-anticuerpos y la inmunidad mediada por células T¹².

En Colombia se ha visto una tendencia al alza de los casos de DH que pasaron de 1.4 casos por 100.000 habitantes en 1994 a 5.17 casos x 100.000 habitantes en 1998. En el año 2003, el SIVIGILA registró en el país 58.335 casos de dengue. Del total de casos registrados, 5026 fueron producidos por DH para una tasa de 4.6 x 100.000 habitantes y 53.309 por dengue clásico (DC) con una tasa de 131.1 x 100.000 habitantes¹³. La región caribe colombiana, que incluye 8 departamentos con cerca de 8 millones de habitantes, se ha convertido en una zona hiperendémica para dengue. En el caso del departamento de Córdoba, en 2002 se informaron 2.664 casos de DC (128 x 100.000) y 197 casos de DH para unas tasas de 9.47 casos x 100.000 habitantes lo cual lo coloca por encima del promedio nacional. Asimismo, en la región circulan sobre todo los serotipos DEN1 y DEN3, mientras que en todo el país es posible descubrir los 4 serotipos, luego de la introducción del DEN3¹⁴.

De otro lado, se ha demostrado, en diversas poblaciones endémicas o hiperendémicas de Colombia, que cerca de 20% de los pacientes con DH no se pueden clasificar mediante criterios clínicos. Por tanto, el diagnóstico diferencial por laboratorio es importante para distinguir la FD y/o el DH de otras enfermedades tropicales¹⁵.

El objetivo principal del presente trabajo fue el de describir y estudiar un brote de fiebre de origen desconocido en habitantes de una zona rural tropical del departamento de Córdoba, a través de un diagnóstico diferencial de diversas enfermedades tropicales como dengue, malaria, leptospirosis, rickettsiosis, salmonelosis, brucelosis, etc.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y aspectos geoclimáticos del sitio de

estudio. En abril de 2003 el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de Córdoba, condujo en compañía de la Secretaría de Salud del Departamento, un estudio de tipo descriptivo observacional sobre un brote de fiebre de origen desconocido (FOD) aparecido en el municipio de Chimá, localidad rural ubicada a 80 km de Montería. El municipio posee una población de 9.000 habitantes, con una economía basada en la agricultura y la ganadería. La temperatura anual promedio de la zona alcanza los 32°C, su humedad relativa ambiental es 85% y la altura sobre el nivel del mar es 8 m. Al igual que el resto de la costa caribe colombiana, tiene dos estaciones marcadas de verano (diciembre-abril) y lluvias (mayo-octubre).

Estudio de los casos. Los casos se recopilaban de un grupo de 209 pacientes sintomáticos con fiebre que asistieron a la consulta del único centro de salud de atención básica del municipio de Chimá. De estos 209 pacientes, se tomaron 89 (42.6%) de quienes se obtuvo toda la información clínica, epidemiológica y exámenes para-clínicos, mediante la aplicación de un instrumento para recolectar datos, diseñado y aplicado por parte del médico tratante. Se incluyeron sólo 89 pacientes por limitaciones en el presupuesto. Los datos clínicos comprendieron: fecha de comienzo de los síntomas, período de evolución y manifestaciones clínicas más importantes (cefalea, fiebre, dolor abdominal, diarrea, vómito, artralgias y petequias). A los 89 pacientes se les tomó una sola muestra de sangre, porque no fue posible tomar muestras pareadas. Las sangres se tomaron en promedio cuatro días después del comienzo de los síntomas, en el sitio de estudio. Una vez obtenidos los sueros, se refrigeraron a 4°C y en menos de tres horas se llevaron al laboratorio del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico donde se conservaron en congelación a -70°C hasta su análisis.

Estudio serológico del cuadro febril. El estado febril se estableció mediante la toma de temperatura oral. Para conocer la etiología del síndrome febril, se llevó a cabo un estudio serológico para demostrar anticuerpos de las clases IgG e IgM de varias enfermedades a saber, leptospirosis, dengue, salmonelosis, rickettsiasis y fiebre tsutsugamushi (*Dot-ELISA Dip-S-Ticks*, *SDLST®*, *Panbio Inc*, USA). Los casos que resultaron positivos con esta prueba preliminar de tamizaje o filtro se confirmaron con la técnica ELISA. Se incluyeron como verdaderos positivos aquellos pacientes que presentaron seroreactividad por lo menos en 2 de las técnicas (DIP-S-

TICK® y ELISA).

Cuadros hemáticos. Los exámenes generales de laboratorio llevados a cabo en los pacientes fueron: cuadro hemático diferencial, hematócrito, plaquetas y hemoglobina.

Estudio serológico de dengue. Los casos que resultaron positivos por la prueba de *SDLST®* para dengue, se analizaron por separado con ELISA anti-dengue IgG de Captura y ELISA anti-IgM de Captura (*Panbio*, Australia). Básicamente, todos los reactivos se dejaron tres horas a temperatura ambiente antes de la prueba. La técnica consistió en preparar diluciones 1/100 del suero, se adicionaron 100 µl de la muestra a los pozos recubiertos con anticuerpos monoclonales específicos contra los antígenos de dengue y se incubó por 60 minutos a 37°C, se lavó 6 veces (*STAT-FAX® 2600*, Awareness Technology, USA) con amortiguador de lavado, se adicionó un volumen igual de anticuerpo trazador y de solución de antígeno y se incubó por 60 minutos a 37°C. Se lavó 6 veces y se adicionaron 100 µl de TMB a los pozos. Se incubó 10 minutos a temperatura ambiente y se adicionaron 100 µl de solución de parada en el mismo orden que se adicionó el TMB y se leyeron los pozos en un lector de placas de ELISA (*STAT-FAX® 2100*, Awareness Technology, USA) se usó un filtro de 450 nm y uno de referencia de 630 nm. En el caso de ELISA IgG de captura, el punto de corte se estableció para que la prueba fuera positiva en títulos iguales o superiores a 1:2560 por HAI. Para validar la prueba se incluyeron sueros controles positivos y negativos.

Definición de casos probables de dengue. Además de la clínica sugestiva de dengue, se consideró positivo al paciente con una demostración de IgM y/o IgG al virus del dengue. El dengue se caracterizó como primario o secundario de acuerdo con el patrón de respuesta de anticuerpos que presentaron los casos. Una infección primaria por dengue se definió en los pacientes que presentaron una respuesta de anticuerpos específicos contra dengue negativa para IgG por ELISA^{8,16-18}. Se consideraron como infecciones secundarias las de los pacientes con una respuesta de anticuerpos positiva para IgG por ELISA. Esto debido a que se ha demostrado en pacientes con infecciones primarias por dengue que no tienen anticuerpos IgG demostrables en contraste con los altos títulos de IgG que se encuentran en la mayoría de los pacientes con infecciones secundarias, incluso 10 meses después de la infección inicial^{8,19-21}.

Estudio serológico de leptospirosis. Los pacientes que resultaron positivos por la prueba de SDLST® para leptospira, se analizaron por separado con ELISA para determinar anticuerpos IgM contra *Leptospira* ELISA IgM (Panbio, Australia). Brevemente, todos los reactivos se dejaron media hora a temperatura ambiente antes de la prueba. La técnica consistió en adicionar una dilución 1/100 del suero, a los pozos recubiertos con antígeno específico de *Leptospira* (Serovar Patoc I) y se incubaron por 60 minutos a 37°C y se lavó 6 veces (STAT-FAX® 2600, Awareness Technology, USA) con amortiguador de lavado, luego se adicionaron 100 µl de conjugado y se incubó de nuevo por 60 minutos a 37°C. Se lavó 6 veces y se adicionaron 100 µl de TMB a los pozos. Se incubó 10 minutos a temperatura ambiente y se adicionaron 100 µl de solución y se leyeron los pozos en un lector de placas de ELISA (STAT-FAX® 2100, Awareness Technology, USA) con un filtro de 450 nm y un filtro de referencia de 630 nm. Para validar la prueba se incluyeron sueros controles positivos y negativos.

Estudio serológico de Brucella. El diagnóstico diferencial de brucelosis se estableció a través de la prueba aglutinación por látex de rosa de bengala (Viron Inc, Co Md USA). La técnica del antígeno de rosa de bengala consistió en una reacción de aglutinación rápida que utilizó una suspensión de *Brucella abortus*. Para el procedimiento, se equilibraron los reactivos a temperatura ambiente (22-26°C), se agitó el frasco para homogeneizar la suspensión, se depositaron sobre el soporte 30 µl de suero que se iba a estudiar y 30 µl del antígeno amortiguado, se mezcló y se conservó la aglutinación. Para validar la prueba se incluyeron sueros controles positivos y negativos.

Estudio serológico y de laboratorio de salmonelosis y fiebre tifoidea. Para descartar salmonelosis se llevaron a cabo hemocultivos y coprocultivos por métodos tradicionales previamente establecidos. Esto se hizo porque en la impresión diagnóstica inicial se describió esa enfermedad. Los hemocultivos se tomaron en pacientes con picos febriles, los coprocultivos se tomaron a los que habían padecido la enfermedad 48 horas antes y que no habían tomado antibióticos. Para el diagnóstico de fiebre tifoidea a todos los pacientes se les realizó prueba de antígenos febriles de Widal. En esta prueba no se tuvieron en cuenta las seroconversiones con muestras pareadas por falta de recursos económicos. El punto de corte en el que se consideró positiva la prueba fue un título de 1/64.

Análisis de aguas. Para descartar que el vehículo de transmisión de la infección fuera el agua se llevó a cabo un análisis de los principales afluentes o depósitos de aguas de consumo del municipio. Se hicieron con pruebas patrones de laboratorio de filtración por membrana, recuento de gérmenes coliformes y búsqueda de *Salmonella* y *Shigella*.

Estudio de malaria en el laboratorio. Para investigar malaria se examinaron láminas con gotas gruesas en búsqueda de parásitos (formas sexuales o asexuales).

Aspectos éticos. Se siguieron las normas técnicas, científicas y administrativas para la investigación en salud, del Ministerio de Salud de Colombia Resolución Número 008430 del 4 de octubre de 1993. A lo largo del estudio siempre se protegió la privacidad e intimidad del individuo, pues se le identificó con un número interno. Los resultados de los análisis se incluyeron en una base de datos para usarlos de forma anónima mediante la asignación de un número. A todos los sujetos que ingresaron en la investigación se les explicó verbalmente el tipo de estudio y se obtuvo su consentimiento oral y escrito. Este estudio lo aprobó el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de Córdoba.

Procesamiento de datos. Los datos en los formularios se tabularon y procesaron con la hoja de cálculo de MS Excel® 2000.

RESULTADOS

La distribución de los casos analizados (n=89) de FOD por edad y género, no mostró diferencias entre géneros ni en el total ni en el interior de los grupos etáreos. Aunque la media de edad fue de 16 años, cerca de 85% de los casos fueron en hombres y mujeres menores de 30 años. Uno de cada tres casos se presentó en niños menores de 4 años y dos de cada tres en menores de 14 años (Cuadro 1).

Estudio clínico. Aunque todos los pacientes dijeron consultar por fiebre en cerca del 14% no se estableció la fiebre en el momento de la consulta. La cefalea fue referida por 66% de los casos y 62.9% presentaron ambas al ingreso. Las artralgias las refirieron 40% de los casos y acompañadas siempre de fiebre. Las tres condiciones anteriores se presentaron en 30.4% de los casos. La diarrea y el vómito se registraron en 37% y 12%, respectivamente. El dolor abdominal siempre estuvo acompañado de vómitos y, en dos casos, hubo sangre (Cuadro 2). Otros síntomas como malestar general o dolor muscular, no aparecen registrados debido a que los pacientes no

Cuadro 1
Distribución de pacientes con FOD, por edad y género.
Chimá, Córdoba, Colombia, 2003

Grupo edad (años)	Mujeres	%	Hombres	%	Total	%	% acumulado
0-4	12	26.7	16	36.4	28	31.5	31.5
5-9	8	17.8	5	11.4	13	14.6	46.1
10-14	9	20.0	7	15.9	16	18.0	64.0
15-19	1	2.2	6	13.6	7	7.9	71.9
20-24	1	2.2	4	9.1	5	5.6	77.5
25-29	5	11.1	2	4.5	7	7.9	85.4
30-34	2	4.4	1	2.3	3	3.4	88.8
35-39	1	2.2	1	2.3	2	2.2	91.0
40-44	1	2.2		0.0	1	1.1	92.1
45-49	1	2.2		0.0	1	1.1	93.3
50-54		0.0	1	2.3	1	1.1	94.4
55-59	2	4.4		0.0	2	2.2	96.6
60 y más	2	4.4	1	2.3	3	3.4	100.0
Total	45	100.0	44	100.0	89	100.0	

Cuadro 2
Signos y síntomas de pacientes con FOD.
Chimá, Córdoba, Colombia, 2003

Signo o síntoma	Nº	%
Fiebre	77	86.5
Cefalea	59	66.3
Fiebre + cefalea	56	62.9
Artralgias	36	40.4
Fiebre + cefalea + artralgias	27	30.4
Dolor abdominal	33	37.1
Fiebre + cefalea + dolor abdominal	27	30.4
Diarrea	22	24.7
Vómito	9	12.1

tenían esas manifestaciones en el momento de la toma de los datos.

Se tomaron muestras para antígenos febriles en 63 de los 89 pacientes (Cuadro 3). Se observa que el antígeno paratífico B mostró mayor incidencia, 36.5% de los casos seguido por el tífico O con 19% y el *Proteus* OX19 con 14.3%. Los hemoparásitos fueron todos negativos, así como los cultivos para *Salmonella*, *Shigella* en sangre, heces y aguas de consumo.

Diagnóstico serológico. En el Cuadro 4 se observan los resultados en 89 pacientes del análisis preliminar que se realizó con la prueba de *Dot-ELISA Dip-S-Tick SDLST®*. Se encontró en estos 89 pacientes analizados una positividad de 45% para dengue y algunas reacciones para *Salmonella* (4.7%) y *Leptospira* (5.6%). Para *Orientia* y *Rickettsia* no se halló seroreactividad. Para *Brucella* la reactividad fue baja (1/80) y la aglutinación leve. El paciente no presentaba clínica sugestiva de infec-

ción. No se encontraron *Salmonella* ni *Shigella* en sangre o en el agua de consumo. Estos resultados preliminares sugirieron confirmar los estudios serológicos por ELISA para dengue. A este nivel el brote de FOD estaba bastante bien documentado desde el punto de vista etiológico como para sospechar una infección aguda sugestiva de dengue.

También se descubrieron 8 de 26 serologías positivas por ELISA para *Leptospira*, que en su totalidad se asociaban con las muestras positivas de IgM e IgG para dengue (Cuadro 5). Es decir que en 30% de las muestras sero-reativas para dengue hubo asociación con posibles infecciones por *Leptospira*. No se pudo determinar por ELISA IgM si las infecciones por *Leptospira* eran recientes o pasadas. La amnanesis demostró que estos pacientes no tenían signos ni síntomas sugestivos de leptospirosis.

Patrón de respuesta de anticuerpos para dengue.

Una vez que se obtuvo una evidencia serológica de infección por dengue a través de la prueba de *Dot-ELISA Dip-S-Tick SDLST®*, los resultados se confirmaron en 63 muestras de los 89 pacientes por la técnica de ELISA IgM e IgG. De estas 63, hubo 30 (49%) positivas para IgM y 56 (89%) positivas para IgG. Las reinfecciones por dengue se diagnosticaron en 26 pacientes (44%) y se clasificaron como secundarias según los altos títulos de IgG, con o sin presencia de IgM (Cuadro 5)^{17-21,22}. No se pudieron confirmar 4 pacientes por IgG, pues no se tenía muestra suficiente de suero o estaban contaminadas. La evidencia serológica con base en los resultados confirmatorios por ELISA, los aspectos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio, permitió establecer que el brote de FOD en la población estudiada se debió posiblemente al virus del dengue.

DISCUSIÓN

A pesar de las múltiples causas de FOD que suceden en el trópico colombiano, muchos casos quedan sin diagnosticar, algunas veces por falta de recursos. Este estudio serológico logró un diagnóstico microbiológico presuntivo de una serie de casos de FOD en una pequeña población rural del caribe colombiano. En zonas tropicales como ésta, la sintomatología de los pacientes es compatible con infecciones por agentes como *Salmonella*, *Leptospira*, *Brucella*, *Rickettsia*, *Orientia* y *Plasmodium sp.* Todos los pacientes tenían factores de riesgo asociados con su hábitat en zonas rurales y casi todos dedicados a labores agrícolas. Por los antecedentes

Cuadro 3

Resultados de las pruebas de laboratorio con antígenos febriles y *Brucella*. Chimá, Córdoba, Colombia, 2003

Antígeno	Dilución	Mujeres	Hombres	Total	%
<i>Brucella abortus</i>	1/80	1		1	1.6
Paratífico A	1/240	1		1	
	1/40	2		2	
	1/80	3		3	
Total Paratífico A		6		6	9.5
Paratífico B	1/1280	1		1	
	1/160	1	3	4	
	1/1600	1		1	
	1/2400		1	1	
	1/320		1	1	
	1/3200		1	1	
	1/380		1	1	
	1/40	2		2	
	1/50		1	1	
	1/60		1	1	
	1/640		2	2	
1/80	5	2	7		
Total Paratífico B		10	13	23	36.5
Paratífico H	1/160	1		1	
	1/40		1	1	
Total Paratífico H		1	1	2	3.2
Paratífico O	1/40	1		1	
	1/80	1		1	
Total Paratífico O		2		2	3.2
Proteus OX19	1/140	1		1	
	1/160		2	2	
	1/40	2		2	
	1/80		4	4	
Total Proteus OX19		3	6	9	14.3
Tífico H	1/160		2	2	
	1/320	1		1	
	1/40	2		2	
	1/60		1	1	
	1/80	2		2	
Total Tífico H		5	3	8	12.7
Tífico O	1/160	1	1	2	
	1/320	4	4	8	
	1/40	1		1	
	1/80		1	1	
Total Tífico O		6	6	12	19.0
Total		34	29	63	100.0

epidemiológicos, condiciones de las viviendas, baja infraestructura de saneamiento básico y por resultados previos de altas prevalencias para *Rickettsia*, *Leptospira* y *Salmonella*^{23,24} se analizaron estas enfermedades incluyendo el género *Orienta* cercano genéticamente a *Rickettsia*. De manera preliminar ante la FOD se usó la serología de

Cuadro 4

Resultados de la prueba de Dot-ELISA en pacientes con FOD. Chimá, Córdoba, Colombia, 2003

SDSLT®	Dengue	<i>Salmonella</i>	<i>Leptospira</i>
Positivo fuerte	23	3	5
Positivo débil	17	1	0
Negativo	49	85	84
Total general	89	89	89

Cuadro 5

Determinación por ELISA de anticuerpos IgM e IgG contra dengue en pacientes con fiebre de origen desconocido en Chimá (Córdoba)

	IgM	IgG	IgM+IgG
Número de pacientes analizados	63	63	59
Pacientes positivos	30	56	26
Porcentaje	49	89	44

Widal, debido a que era la única prueba de diagnóstico microbiológico para-clínico disponible en el dispensario rural del municipio de Chimá. Es bien conocido que esta prueba es inespecífica y es válida sólo en sueros pareados para observar seroconversión. Esto restó validez a su uso, pues se contaba con una sola muestra de cada paciente. Se descartaron salmonelosis y shigelosis por la negatividad de los hemocultivos y coprocultivos, así como por el análisis del agua de todas las fuentes de consumo del municipio.

Además de descartarse leptospirosis por ELISA IgM, que fue negativa en la mayoría de la población estudiada, se analizaron también las variables de presencia de roedores. Según la población no eran abundantes en sus hogares ni sitios de trabajo, tampoco se presentaron cuadros graves ictericos que requirieran hospitalizaciones. Sobre *Orienta tsutsugamushi* causa de la fiebre de los matorrales, poco se sabe en Colombia. Sin embargo, por ser un germen estrechamente relacionado con *Rickettsia* se estudió, sin encontrar resultados positivos. Como otro posible agente causante de la FOD, se analizaron los casos para malaria. Ésta se descartó por los exámenes de laboratorio, la negatividad en las láminas y porque Chimá no es zona endémica de esta enfermedad.

Curiosamente lo último que se tuvo en cuenta como posible agente causal de la FOD fue el dengue. La sintomatología vaga e inespecífica, los resultados poco contundentes de laboratorio, el brote en pleno verano de abril sin lluvias en los últimos tres meses, terminó por dejar como última opción esta enfermedad. Sólo con los resultados de las pruebas de laboratorio de *screening* inicial con el Dot-Elisa

y después la confirmación de estas muestras por ELISA, IgM e IgG se concluyó que el brote en esta población se debió probablemente al virus del dengue.

Todo lo anterior demuestra, que el diagnóstico presuntivo por síntomas clínicos no es suficiente para un diagnóstico definitivo de FOD y de fiebres tropicales. El apoyo diagnóstico del laboratorio serológicamente al valorar los anticuerpos IgM e IgG contra varios agentes etiológicos es de vital importancia^{1-4,17-20}. Es primordial resaltar que estos resultados sugieren que probablemente se trató de un brote por dengue con base en la positividad de anticuerpos pero mediante el uso de ambos tipos de anticuerpos debido a que el área estudiada era endémica para dengue. Este hecho resalta que las probabilidades de encontrar pacientes que fueran negativos para IgM pero positivos para IgG eran altas como se presentó (Cuadro 5). Por tanto, las pruebas serológicas con ambos tipos de anticuerpos es de vital importancia en zonas endémicas. Sin embargo, este brote no fue típico de casos de fiebre por dengue. Diversos factores ambientales, características del hospedero y las cepas virales, juegan un papel básico en las manifestaciones clínicas del dengue. Se cree que el nivel de anticuerpos, la producción de citoquinas, la carga viral y la activación de células T CD8+ tienen función importante en los aspectos clínicos de algunos brotes como ya se demostró en otros estudios²⁵⁻²⁷. Quizá el factor geoclimático pudo influir en la dispersión del diagnóstico microbiológico presuntivo.

La costa caribe colombiana es una zona de alta prevalencia de *Flavivirus*. Es probable que la presencia de anticuerpos heterotípicos neutralizantes de otras infecciones cruzadas por *Flavivirus* salvajes pueda prevenir o disminuir la severidad de la enfermedad. En el estudio no fue posible conocer cuántos pacientes habían padecido antes dengue u otra enfermedad por *Flavivirus* o vacunación por fiebre amarilla, pues no se incluyó en la historia epidemiológica.

En general, un amplio rango de los habitantes estuvieron expuestos a una infección por dengue^{13,14}. Por el factor de riesgo de permanencia en el área rural, es probable que hayan estado en permanente contacto con otros *Flavivirus* selváticos, incluso cepas poco virulentas de dengue. En estos casos, es probable que estos pacientes reaccionen de forma positiva en las pruebas diagnósticas usadas en este estudio pero sin complicaciones clínicas como dengue hemorrágico. Se estima que cerca de 25% de las muestras IgM negativas son IgG positivas en

pacientes sintomáticos y por eso se resalta la importancia de valorar ambos tipos de anticuerpos en las investigaciones de brotes por dengue^{17-20,28-30}. En los resultados del presente trabajo, se encontró que 89% de los pacientes fueron positivos para IgG mientras que 49% fueron positivos para IgM, con fenómenos similares a los descritos antes en otras zonas endémicas para dengue como el sureste asiático o India^{18,19,26-28}. Como sólo fue posible obtener una muestra de suero, no se estableció si las infecciones eran activas o pasadas.

De otra parte, si bien los cuatro serotipos del dengue pueden causar la enfermedad, se ha relacionado a los serotipos DEN2 y DEN3 como los que producen la enfermedad más severa⁹⁻¹¹. En el año 2002 en Barranquilla se aisló el serotipo DEN1, en la Guajira el DEN1 y el DEN3 y en San Andrés el DEN3³¹. Es probable que para el 2003 el DEN3 ya estuviera circulando en Córdoba facilitando segundas y/o terceras infecciones con el virus.

Otros datos sugieren que el virus del dengue puede cambiar de una cepa con carácter epidémico a una cepa silenciosa en la naturaleza que causa una enfermedad leve e imperceptible³². También se ha documentado que existen discrepancias en los perfiles clínicos de los pacientes con base en las diferencias en la virulencia de las cepas del virus en Indonesia y las islas del Pacífico³³. Estudios más recientes en Perú, con una alta incidencia de infecciones secundarias, demuestran que no desarrollar dengue hemorrágico se asocia con la circulación de genotipos virales específicos como el DEN2 genotipo americano³⁴ como se ha evidenciado también en Colombia³⁵. En el presente estudio se intentó confirmar el serotipo circulante por serotipificación y por RT-PCR sin éxito. Probablemente los *primers* usados para la amplificación no descubrieron todas las cepas de virus de dengue y no se utilizó un *primer* múltiple para diversas regiones del genoma viral o un protocolo general para *Arbovirus* con el fin de disminuir los resultados falsos negativos causados por las variaciones en las secuencias de diferentes cepas y posibles mutantes^{17,36}. Asimismo, es posible que los ciclos de congelación/descongelación hayan afectado la calidad de las muestras y degradado cualquier indicio de material genético existente. En Colombia es necesario establecer estudios de epidemiología molecular de las cepas de dengue circulantes para determinar la relación entre ellas y la sintomatología en los pacientes.

Además, desde una perspectiva epidemiológica este tipo de enfermedades transmisibles continúan como un

problema de salud pública, por el creciente número de casos que se presentan, la población que afectan y las discapacidades que quedan como secuela por un diagnóstico tardío y por el incumplimiento de las acciones previstas en la normatividad para el seguimiento de los pacientes con enfermedades transmitidas por vectores. Este estudio aportó, de manera conjunta con el servicio de salud de Córdoba, un conocimiento de un problema específico de salud de la población de Chimá. Este insumo le sirvió al ente territorial para planificar actividades que permitieron intervenir con acciones de prevención (fumigación, limpieza de estanques, y saneamiento rural básico) instauradas con base en el conocimiento del diagnóstico realizado, y que lograron contener el brote de fiebre.

Por último, ante las evidencias serológicas y epidemiológicas halladas, es razonable concluir que el esfuerzo diagnóstico hecho al descartar otras enfermedades tropicales importantes permitió diagnosticar que el brote de FOD en una población rural de Córdoba fue ocasionado presuntivamente por el virus del dengue.

AGRADECIMIENTOS

Al Servicio de Salud de Córdoba, a los doctores Alexis Gainer, Heliodoro Kerguelen, Ruby Hernández, a la doctora Piedad Sánchez de OPS regional Córdoba y a la comunidad y el personal de salud del municipio de Chimá.

REFERENCIAS

- Ergonul O, Willke A, Azap A, Tekeli E. Revised definition of "fever of unknown origin": limitations and opportunities. *J Infect* 2005; 50: 1-5.
- Leelarasamee A, Chupaprawan C, Chenchittikul M, Udompanthurat S. Etiologies of acute undifferentiated febrile illness in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2004; 875: 464-472.
- Pradutkanchana J, Pradutkanchana S, Kemapanmanus M, Wuthipum N, Silpopajakul K. The etiology of acute pyrexia of unknown origin in children after a flood. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003; 34: 175-178.
- Jung A, Singh MM, Jajoo U. Unexplained fever-analysis of 233 cases in a referral hospital. *Indian J Med Sci* 1999; 53: 535-544.
- Nimmannitya S. Clinical spectrum and management of dengue haemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1987; 18: 392-397.
- Hayes EB, Gubler DJ. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 311-317.
- Gubler DJ. Serological diagnosis of dengue/dengue haemorrhagic fever. *Dengue Bull* 1996; 20: 20-23.
- Innis BL, Nisalak A, Nammannitya S, et al. An enzyme linked immosorbant assay to characterise dengue infections where dengue and Japanese encephalitis cocirculate. *Am J Trop Med* 1989; 40: 418-427.
- Halstead SB. Immunological parameters of togavirus disease syndromes. In: Schlesinger RW (ed.). *The togaviruses. Biology, structure and replication*. New York: Academic Press; 1980. p.107-173.
- Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 1988; 239: 476-481.
- Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern and virus serotype correlate with disease severity. *J Infect Dis* 2000; 181: 2-9.
- Morens DM. Antibody dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 500-512.
- Porrás A, Velandia M. Situación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por vectores. *Bol Epidemiol Inst Nal Salud* 2003; 10: 6-12.
- Méndez J, Bernal MP. Serotipos de dengue aislados por semana epidemiológica dentro de la vigilancia de enfermedades febriles. Bogotá: Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Salud; 2002. [fecha de acceso 3 de junio de 2005]. URL disponible en: http://www.ins.gov.co/pdf_investiga/v_dengue.PDF
- Méndez A, González G. Dengue haemorrhagic fever in children: ten years of clinical experience. *Biomédica* 2003; 23: 180-193.
- Gubler DJ. Serologic diagnosis of dengue/dengue haemorrhagic fever. *Dengue Bull* 1996; 20: 20-23.
- Shu PY, Huang JH. Current trends in dengue diagnosis. *Clin Diag Lab Immunol* 2004; 11: 642-650.
- Kao C, King C, Chao D, Wu H, Chang G. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: Current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. *J Microbiol Immunol Infect* 2005; 38: 5-16.
- Gubler DJ, Serologic diagnosis of dengue/dengue haemorrhagic fever. *Dengue Bull* 1996; 20: 20-23.
- Shu P-Y, Huang JH. Current trends in dengue diagnosis. *Clin Diag Lab Immunol* 2004; 11: 642-650.
- Chanama S, Anantapreecha S, A-nuegoonpipat A, Sa-gnasang A, Kurane I, Sawanpanyalert P. Analysis of specific IgM responses in secondary dengue virus infections: levels and positive rates in comparison with primary infections. *J Clin Virol* 2004; 31: 185-189.
- Miagostovich M, Nogueira R, Santos F dos, Schatzmayr H, Araújo E, Vorndam V. Evaluation of an IgG enzyme-linked immunosorbent assay for dengue diagnosis. *J Clin Virol* 1999; 143: 183-189.
- Miranda A, Flórez S, Máttar S. Seroprevalencia de rickettsiosis en trabajadores del campo en el municipio de Ciénaga de Oro, departamento de Córdoba. *Informe quincenal epidemiológico nacional (IQUEN)* 2002; 7: 71-74.
- Nájera S, Álvarez L, Babilonia D, Villera P, Máttar S. Informe preliminar de seroprevalencia de leptospirosis humana en el departamento de Córdoba. *Biomedica* 2003; 23 (Supl 1): 19.
- Libraty DH, Endy T, Houg HS, et al. Differing influences of viral burden and immune activation on disease severity in secondary dengue 3 virus infections. *J Infect Dis* 2002; 185: 1213-1221.
- Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *J Infect Dis* 1997;

- 176: 322-330.
27. Bethell DB, Flobbe K, Thanh Phuong C, *et al.* Pathophysiologic and prognostic role of cytokines in dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1998; 177: 778-782.
 28. Pan American Health Organization. *Dengue and dengue haemorrhagic fever in the Americas: Guidelines for prevention and control*. Scientific Publication N° 548. Washington: PAHO; 1994.
 29. WHO. *Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control*. Geneva: WHO; 1997.
 30. Kuno G, Gómez I, Gubler DJ. An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infections. *J Virol Methods* 1991; 33: 101-113.
 31. Méndez J, Bernal M del P. *Distribución geográfica de los serotipos de dengue aislados en Colombia*. Bogotá: Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Salud; 2002. [fecha de acceso 3 de junio de 2005]. URL disponible en: http://www.ins.gov.co/pdf_investiga/v_dengue.PDF
 32. Gubler DJ, Reed D, Rosen L, and Hitchcock, JC. Epidemiological, clinical and virologic observations on dengue in the Kingdom of Tonga. *Am Trop Med Hyg* 1978; 27: 581-589.
 33. Gubler DJ, Suharyono W, Lubis I, Eram S, Gunarso S. Epidemic dengue 3 in Central Java, associated with a low viremia in man. *Am J Trop Med Hyg* 1981; 30: 1094-1099.
 34. Watts DM, Porter K, Putvatana P, *et al.* Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1999; 354: 1431-1434.
 35. Rico-Hesse RL, MHarrison, RA, Salas D, *et al.* Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology* 1997; 230: 244-251.
 36. Reynes JM, Ong C, Mey C, Ngan S, Hoyer AA. Improved molecular detection of dengue virus serotype 1 variants. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3864-3867.