

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA – LEÓN.  
AREA DEL CONOCIMIENTO DE CIENCIAS MÉDICAS  
DIRECCIÓN DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**



**MONOGRAFIA PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO EN BIOANALISIS  
CLINICO**

**Análisis de hipocalcemia en muestras de pacientes con infección viral por Dengue  
serotipo 4 en el departamento de León-Nicaragua.**

**Autores:**

Br. Bryan Alberto Hernández Vanegas 17-12504-0

Br. Evelin Daniela Pérez Núñez 17-03084-0

Br. Olvin Antonio Sobalvarro Rivera 17-11008-0

**Tutor:**

Lic. Jefferson Leonel Campo Téllez.

Profesor del Departamento de Área Básica

Sección de Bioquímica

UNAN, León

**León, 2024**

**2024: 45/19 La Patria, La Revolución!**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA – LEÓN.  
AREA DEL CONOCIMIENTO DE CIENCIAS MÉDICAS  
DIRECCIÓN DE BIOANÁLISIS CLÍNICO**



**MONOGRAFIA PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO EN BIOANALISIS  
CLINICO**

**Análisis de hipocalcemia en muestras de pacientes con infección viral por Dengue  
serotipo 4 en el departamento de León-Nicaragua.**

**Autores:**

Br. Bryan Alberto Hernández Vanegas

Br. Evelin Daniela Pérez Núñez

Br. Olvin Antonio Sobalvarro Rivera

**Tutor:**

Lic. Jefferson Leonel Campo Téllez.

Profesor del Departamento de Área Básica

Sección de Bioquímica

UNAN, León

**León, 2024**

**2024: 45/19 La Patria, La Revolución!**

## **Dedicatoria**

A Dios por darnos la fuerza y sabiduría para poder llegar a alcanzar una meta en nuestro desarrollo personal y académico.

A mi familia que me apoyo en este proceso especialmente mi madre, Evelin Núñez y mi padre, Víctor Pérez por su amor y paciencia brindada sin ellos esto no sería posible, así mismo agradecer a mis abuelos tíos y primos quienes estuvieron día a día apoyándome.

A cada uno de mis amigos que fueron un apoyo importante en el transcurso de este tiempo.

Evelin Pérez

Dedico este logro a mis padres Novin Sobalvarro y Esmilda Rivera por su paciencia y apoyo en este proceso al igual que a mis hermanas Maykeling Sobalvarro y Norely Sobalvarro.

Olvin Sobalvarro.

Dedico este logro a mis padres Luis Hernández Y María Vanegas por su apoyo incondicional.

Bryan Hernández.

## **Agradecimiento**

En primer lugar dar gracias a Dios por guiarnos y acompañarnos en el transcurso de nuestra vida, por brindarnos, sabiduría, paciencia, compañerismo y fuerza para poder alcanzar una meta más.

A nuestro tutor Master Jefferson Leonel Campos Téllez, por su apoyo y acompañamiento en este proceso de realización de la tesis. Gracias por su paciencia y conocimiento brindado.

A nuestro querido amigo Master Nelvar Lenin Zapata Antón por ser parte fundamental en este proceso y brindarnos su apoyo incondicional.

A todo el excelente personal docente de la carrera de Bioanálisis clínico por habernos brindado de su conocimiento, su tiempo y esmero en nuestra formación académica.

Al departamento de investigación de la UNAN, León, por facilitarnos las muestras de este estudio investigativo.

A cada uno de nuestros padres, por el apoyo incondicional que nos han brindado en cada proyecto de nuestras vidas, ya que sin el esfuerzo de ellos no podríamos haber alcanzado este logro.

## **Análisis de hipocalcemia en muestras de pacientes con infección viral por dengue serotipo 4 en el departamento de León, Nicaragua**

Autores: Bryan Hernández, Evelin Pérez, Olvin Sobalvarro

**Introducción:** El dengue es una enfermedad de amplio espectro clínico, se considera como la enfermedad viral transmitida por vectores de mayor y más rápida distribución en el mundo, en la cual se ha demostrado que existen numerosos cambios en los parámetros bioquímicos séricos con el inicio de la fuga de plasma, la cual está asociada con la hipocalcemia. El propósito del estudio es determinar la correlación de los niveles de calcio sérico con la gravedad de las infecciones por dengue tipo 4 en el departamento de León, Nicaragua.

**Materiales y métodos:** se realizó un estudio de casos y controles. Se seleccionaron 88 muestras divididas en 43 casos y 45 controles, seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión, se analizaron características sociodemográficas, clínicas y parámetros de laboratorio asociados a infecciones por el virus del dengue.

**Resultados:** Las características socio-epidemiológicas presentes entre casos y controles fueron: pacientes del sexo masculino de la zona urbana de la ciudad, con un nivel académico promedio de estudios primarios y un promedio de edad entre los 21 – 23 años respectivamente. La media de los niveles de calcio total en los casos fue de 9.8 mg/dl y en los controles fue de 10.2 mg/dl. La media de los niveles de calcio iónico fue de 4.1 para el grupo de casos y de 4.0 para controles. La frecuencia de hipocalcemia fue de 81.6% en base a la evaluación del calcio iónico.

**Conclusión:** No hubo diferencia entre las medias de los niveles de calcio total entre casos y controles, la frecuencia de hipocalcemia fue del 81.6% tomando en cuenta los niveles de Calcio Iónico.

**Palabras claves:** Virus del dengue, Fiebre, dengue hemorrágico, serotipos, hipocalcemia.

## ÍNDICE.

1. INTRODUCCION .....	1
2. ANTECEDENTES .....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	5
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	6
5. OBJETIVOS.....	7
5.1 . General:.....	7
5.2. Específicos: .....	7
6. MARCO TEORICO. ....	8
6.1. GENERALIDADES DEL DENGUE .....	8
6.2. CARACTERISTICAS.....	8
6.3. Replicación del virus del dengue.....	10
6.4. EPIDEMIOLOGIA A NIVEL MUNDIAL .....	13
6.6. CLINICA DE INFECCION POR DENGUE .....	18
6.7. CLASIFICACION DE LA ENFERMEDAD .....	20
6.8. PATOGENESIS .....	21
6.9. RESPUESTA HUMORAL Y CELULAR DEL DENGUE.....	24
6.10. PAPEL DEL CALCIO.....	30
6.11. PAPEL DEL CALCIO EN LA ENFERMEDAD DEL DENGUE.....	32
6.12. DIAGNOSTICO CLINICO LABORATORIO E INMUNOLOGICO .....	39
7. DISEÑO METODOLOGICO .....	44
8. RESULTADOS.....	55
9. DISCUSIÓN .....	64
10. CONCLUSIONES.....	67
11. RECOMENDACIONES. ....	68
12. BIBLIOGRAFÍA.....	69
13. ANEXOS.....	77



## 1. INTRODUCCION

Las enfermedades emergentes que amenazan la salud pública mundial son transmitidas por vectores artrópodos generando un impacto social y económico(1). El dengue se considera como la enfermedad viral transmitida por vectores de mayor y más rápida distribución en el mundo debido a su aumento poblacional, llegando a convertirla en la infección arboviral más común en regiones tropicales y subtropicales; teniendo como vector principal el mosquito *Aedes Aegypti* portador de 4 serotipos del virus generando un incremento en su transmisión y severidad. (2) (3)

A lo largo de las últimas dos décadas, la incidencia mundial del dengue ha aumentado considerablemente. Entre 2000 y 2019, el número de casos notificados en todo el mundo se multiplicó por diez, pasando de 500,000 a 5.2 millones, en 2023 se observó un repunte mundial caracterizado por el aumento significativo de casos y la aparición simultánea de múltiples brotes. (4)

En Nicaragua el dengue ha sido un motivo muy preocupante para la población ya que se ha sufrido epidemias de dengue con casos graves y muertes siendo menores de 15 años los más afectados, debido a que la organización panamericana de salud (OPS) en tan solo unos meses, hizo un reporte de 55,289 casos todos estos en sospecha. Así mismo, esto representa un incremento de 138%, de igual manera, de estos casos sospechosos se han confirmado 2,232 lo que da como resultado un incremento del 271% de casos de dengue. (5)

Durante una infección por dengue, los vasos sanguíneos pueden volverse más permeables. Esto significa que las moléculas, incluidos los iones como el calcio, pueden filtrarse con mayor facilidad desde los vasos sanguíneos hacia los tejidos circundantes. La pérdida de calcio a través de esta hiperpermeabilidad vascular puede contribuir a la hipocalcemia observada en pacientes con dengue. El dengue activa una respuesta inflamatoria en el cuerpo. Las citocinas (moléculas de señalización) liberadas durante esta respuesta pueden afectar la homeostasis del calcio. (6)

Es importante que los pacientes con dengue sean monitoreados por hipocalcemia especialmente en periodos de epidemia ya que con vigilancia y tratamiento oportuno disminuyen los casos de mortalidad. La evidencia del papel



## **Análisis de hipocalcemia en muestras de pacientes con infección viral por Dengue serotipo 4**



del calcio en el dengue es limitada, por lo que realizar investigaciones para conocer el comportamiento clínico es de suma importancia para tener en cuenta un panorama amplio en esta patología. Por consiguiente, la presente investigación busca determinar la correlación entre los niveles de calcio sérico y la infección causada por el dengue en la ciudad de León- Nicaragua.



## 2. ANTECEDENTES

Bunnag de Thanyanat & cols en el año 2011 realizaron un estudio en el cual se evaluó los casos de Síndrome de shock por dengue, que se presentaban al servicio de salud del Instituto Nacional Infantil de Tailandia. Dentro de las principales manifestaciones clínicas que presentaban los casos fallecidos se enumeran: Hemorragia masiva, Insuficiencia Hepática, Insuficiencia renal, Insuficiencia Respiratoria y la Acidosis. Algunos hallazgos relevantes fueron la aparición de Hiponatremia en un 40% de los casos fallecidos y la Hipocalcemia en un 80% de los casos fallecidos, sin embargo, también se mostró un 83.3% de casos de Hipocalcemia en los pacientes que se llegaron a recuperar.(7)

En el año 2019 Malarnangai GA & cols, evaluaron los cambios bioquímicos y hematológicos en los casos de fiebre del dengue y dengue hemorrágico del Hospital para niños Lady Ridgeway en Sri Lanka. Se analizaron un total de 130 pacientes, de los cuales solo 30 se catalogaron como casos de Dengue Hemorrágico. En este estudio los niveles de calcio serico no mostraron diferencias en ambos grupos, llegándose a obtener valores de calcio que oscilaban entre los 9.1 mg/dl en los primeros días de la infección hasta valores de 9.6 mg/dl en el sexto y séptimo día de la infección. (8)

Kesavan S. en 2020 analizo la asociación entre los niveles de calcio sérico y la gravedad de las infecciones por el virus del Dengue, en la ciudad de Bangkok, Tailandia. El presente estudio evaluó un total de 100 pacientes con fiebre sospechosos de Fiebre del Dengue. Los análisis de laboratorio del calcio sérico no mostraron diferencia estadística entre los casos de dengue sin signos de alarma y los casos negativos, sin embargo hubo una diferencia estadísticamente significativa en los niveles de calcio sérico de los pacientes con Dengue sin signos de alarma (9.27 mg/dl) y los niveles de calcio sérico en el grupo de Dengue grave (7.60 mg/dl), con un valor de  $P < 0.05$ . (9)



En el año 2022 Gulshan K & cols realizaron un estudio el cual pretendía evaluar la correlación entre los niveles de calcio sérico y la gravedad de los casos de Dengue, el análisis de los niveles de calcio sérico según la gravedad de la enfermedad vario desde una media de 8.5 mg/dl para casos de Dengue leve hasta un 7.95 mg/dl para los casos de shock por Dengue. Se encontró una correlación inversa entre la gravedad del dengue y el nivel de calcio sérico, el coeficiente de regresión lineal fue de -0.892, lo cual indica que a mayor gravedad de la infección los niveles de calcio disminuirán significativamente. (10)



### 3. JUSTIFICACIÓN

El dengue es una enfermedad de amplio espectro clínico incluyendo desde cuadros inaparentes hasta cuadros graves, que pueden evolucionar a la muerte, por lo tanto debe ser vista como una sola enfermedad que puede evolucionar de múltiples formas. Aproximadamente 1 de cada 20 pacientes con enfermedad por el virus del dengue evoluciona hacia una enfermedad grave, posiblemente mortal, llamada dengue (11)

Estudios han demostrado que en pacientes con infección grave por dengue se producen numerosos cambios en los parámetros bioquímicos séricos con el inicio de la fuga del plasma, lo cual estos trastornos no son evidentes en pacientes con dengue no grave. (9)

Se han observado niveles bajos de calcio en la sangre debido a infección por dengue y la hipocalcemia tal vez más pronunciada en formas más graves. Es probable que la causa de la hipocalcemia sea multifactorial.(12)

Se sabe que la hipocalcemia está asociada con la fuga del plasma durante la fase crítica de la infección grave por dengue. Teniendo en cuenta lo mencionado, es evidente que el calcio sérico podría ser un marcador bioquímico potencial para diferenciar la infección grave por dengue de otros pacientes con dengue y planificar el manejo adecuado en el entorno clínico; es por ello, que hemos decidido evaluar los niveles de calcio en pacientes con dengue tipo "4" en la ciudad de León y así aportar información valiosa para el avance en el diagnóstico clínico. (9)



#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Dengue representa un prioritario y creciente problema de salud pública a nivel mundial en el contexto de las enfermedades transmitidas por vectores, mostrando un comportamiento endemoepidémico desde su primera aparición en Nicaragua en el año 1985 persistiendo hasta la época actual con un comportamiento endémico y con aumento de brotes en diferentes departamentos del país. La prevalencia de casos de dengue a nivel latinoamericano lo han reportado los siguientes países: Brasil con 2,363,490 casos (84.1%), Nicaragua con 97,541 casos (3.5%), Perú con 72,851 casos (2.6%), Colombia con 69,497 casos (2.5%), y México con 59,918 casos (2.1%).(13)

El presente estudio está dirigido hacia la hipocalcemia generada por el virus del dengue al ser un átomo encargado de la regulación celular ya que participa en procesos avanzados como transcripción génica, metabolismo, acción muscular y apoptosis. Si bien el calcio actúa como segundo mensajero uniéndose a proteínas censorsas de calcio como la Calmodulina, cuya función es traducir el aumento del calcio intracelular en una respuesta fisiológica en todas las células eucariotas generando así una interacción entre la proteína NS2A del virus y la Calmodulina sugiriendo que esta proteína de la mano con el calcio participa en el ciclo replicativo viral.(14)

La asociación de los complejos de replicación del virus ha llamado la atención sobre la interacción de DENV tipo 4 con iones como calcio dado que la homeóstasis de este ion se genera en el retículo endoplasmático lugar donde ocurre la replicación viral. Uno de los factores influyentes en la incidencia y desenlaces asociados a las enfermedades infecciosas es el estado nutricional. Sin embargo el dengue al ser una problemática de salud pública se conoce muy poco sobre la deficiencia nutricional relacionada al virus y a la severidad de este.(15)

**¿Cuál es el comportamiento de calcio sérico en los pacientes positivos por dengue serotipo 4 y su correlación con los síntomas clínicos?**



## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 . General:**

- Determinar la correlación de los niveles de calcio sérico con la gravedad de las infecciones por dengue tipo 4 en el departamento de León-Nicaragua.

### **5.2. Específicos:**

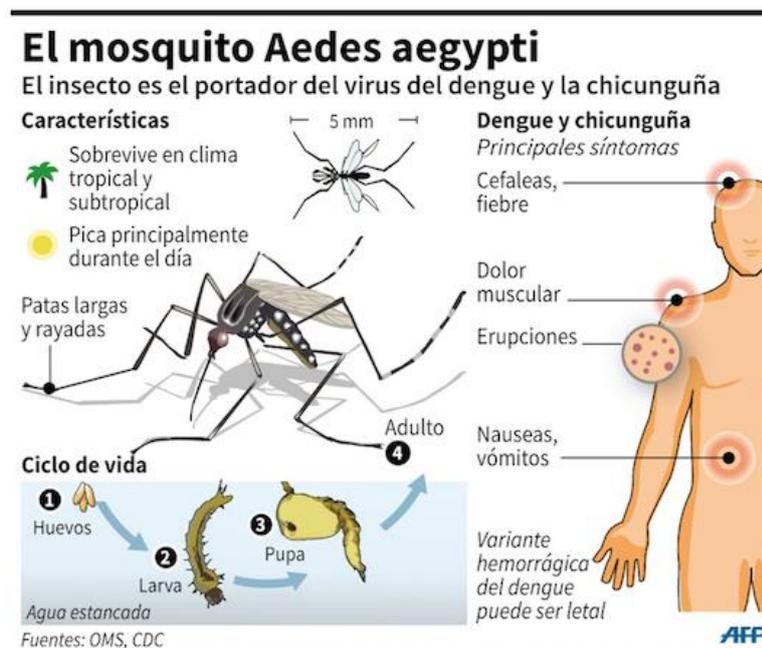
- Caracterizar clínica y epidemiológicamente a los pacientes con dengue en la población de estudio.
- Determinar la concentración sérica de calcio y albumina en los casos y controles.
- Determinar las variaciones en las concentraciones plasmáticas de calcio y albumina sérica y su correlación con la clínica en las infecciones por dengue tipo 4 en la ciudad de León-Nicaragua.



## 6. MARCO TEORICO.

### 6.1. GENERALIDADES DEL DENGUE

El virus del dengue es transmitido mediante la picadura del mosquito *Aedes aegypti*, infectado con el virus, el cual pertenece a la familia *flaviviridae*, en la que se distinguen 4 serotipos conocidos como DEN1, DEN2, DEN3 y DEN4. Después de un periodo de incubación la enfermedad comienza abruptamente, y puede evolucionar en tres fases: febril, crítica o de recuperación.(16) Es más frecuente en las regiones de climas tropicales y subtropicales.(17) esta afecta a lactantes, niños y adultos.(18)



Los cuatro serotipos de dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DEN-V 4) circulan a lo largo de las Américas y en algunos casos circulan simultáneamente. La infección por un serotipo, seguida por otra infección con un serotipo diferente aumenta el riesgo de una persona de padecer dengue grave y hasta morir. (19)

### 6.2. CARACTERISTICAS

Presenta un genoma de ARN de cadena positiva y una membrana de naturaleza lipídica, rodeado por una cápside, o cubierta de proteínas, con simetría icosaédrica (20 lados triangulares). La cápside está compuesta por glicoproteínas organizadas en patrones geométricos de simetría doble, triple y quintuple, que envuelve completamente al virión. Físicamente, el virus es



circular, con un tamaño que varía de 40 a 50 nm de diámetro, presentando pequeñas proyecciones superficiales de 5 a 10 nm.(20)



### Grafica de los fragmentos de la estructura del genoma

El genoma del virión tiene un tamaño de aproximadamente 11Kb y codifica para una simple poliproteína, la cual sufre diversos procesos de corte para generar proteínas virales individuales. Las tres proteínas estructurales (C, M y E) están localizadas en el extremo aminoterminal, mientras que las proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) están en el extremo carboxilo de la poliproteína(20)

Las partículas del 12 DENV son icosaédricas con un tamaño de 50 nm de diámetro (Perera & Kuhn, 2008a). Múltiples copias de la proteína C (11kDa) encapsulan el RNA para formar la nucleocápside viral. La nucleocápside está rodeada de una bicapa lipídica derivada de la célula huésped, en la cual se encuentran ancladas 180 copias de las proteínas M y E. La proteína M es un fragmento proteolítico pequeño (~ 8 kDa) de su forma precursora prM (~21 kDa). La proteína E (53 kDa) tiene tres dominios estructurales distintos. El dominio I está posicionado entre el dominio II, que es el dominio de homodimerización, y el dominio III, de tipo inmunoglobulina (21)



Figura N° 1. Genoma del virus dengue señalando la ubicación de cada uno de los genes que lo conforman (Obtenido de <http://www.science.mcmaster.ca/Biology/Virology/23/ricky.htm>)

El genoma de ARN del virus dengue y de todos los flavivirus, tiene por característica presentar una capucha en su extremo 5' (m7GpppAmp) y carecer de un tracto poliadenilado en su extremo 3'.(20) Presenta además un marco de lectura abierto (ORF: Open read frame por sus siglas en inglés) que varía en tamaño de acuerdo con cada serotipo del virus, incluso entre un mismo serotipo.

### 6.3. Replicación del virus del dengue

#### Formas replicativas

Los virus son parásitos intracelulares obligatorios, que requieren que la célula huésped provea las moléculas necesarias para su replicación. Para replicarse, los virus deben transportar su genoma dentro de la célula huésped, en donde el genoma dirige la síntesis de las proteínas virales, es replicado y empaquetado para formar los nuevos viriones (21)

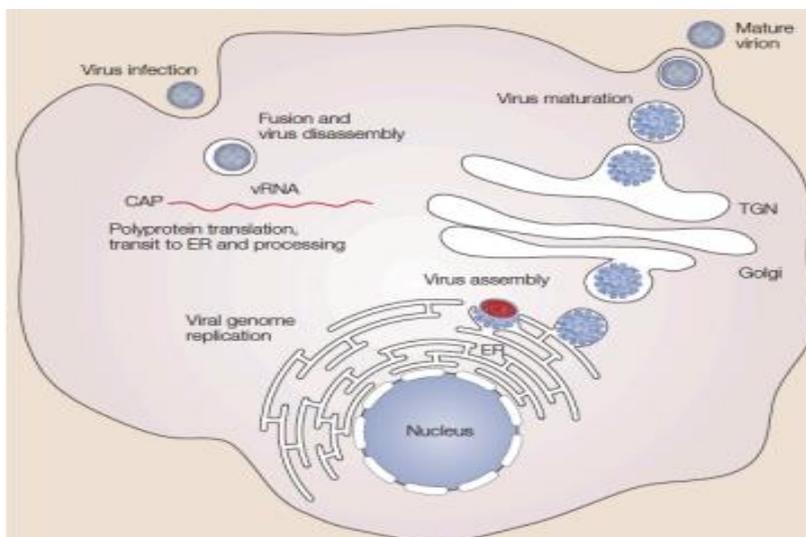




Figura 3. Ciclo replicativo de DENV.

Los viriones se unen a la superficie de la célula huésped y entran por endocitosis mediada por receptor. En el endosoma acidificado se fusiona la membrana del virión a la membrana de esta vesícula y se libera el genoma al citoplasma, donde es traducido y replicado. El virus se ensambla en la superficie del RE, las partículas virales inmaduras se transportan por la red del transGolgi, donde maduran gracias a la acción de la furina y se liberan por exocitosis (21)

El virus Dengue inicia el proceso de replicación mediante la síntesis de la hebra negativa complementaria, la que utiliza como molde para la producción de nuevas moléculas de ARN positivo. Estas últimas hebras actúan como un ARN mensajero para la traducción de la poliproteína, o bien como un molde para la síntesis de la hebra negativa o simplemente para ser encapsulada dentro del virión.(20) Este proceso de replicación es de carácter semiconservativo, pues involucra intermediarios replicativos (RIs) y formas replicativas (RFs). Las RFs son definidas como moléculas de ARN de doble cadena; mientras que las RIs son moléculas de ARN de simple cadena nacientes. Tanto las RIs como las RFs pueden ser detectadas en células infectadas o en reacciones de ARN polimerasa.(20)

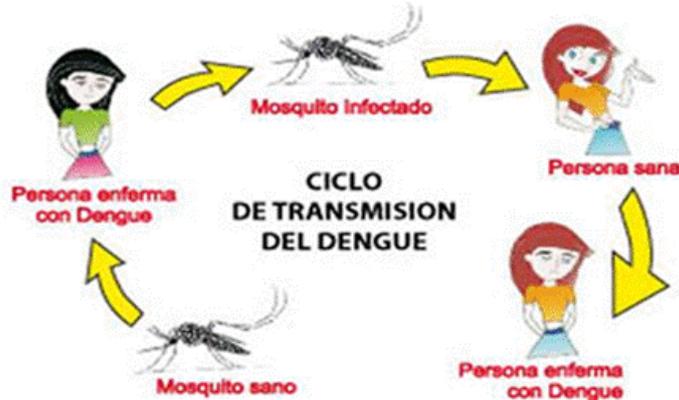
Estudios del virus del dengue han sugerido la presencia de un mecanismo involucrado en la regulación de replicación entre las hebras de ARN positivas y sus complementarias. Esta sugerencia manifestada por Chambers(20) , encuentra apoyo por la existencia de una tasa de síntesis continua de hebras positivas y negativas, en las cuales hay una relación de 10 a 1 respectivamente de manera conservada, a diferencia de los alfavirus cuya síntesis de hebras negativas es interrumpida. Interesantes trabajos de investigación revelaron la implicancia de las proteínas NS3 y NS5 en la replicación de virus dengue y de los flavivirus en general, principalmente en la síntesis de la hebra negativa complementaria y en el paso de formas replicativas (RF) a intermediarios replicativos (RI) (22) (23)

La presencia de doble hebras de ARN ha sido localizada mediante estudios de fraccionamiento celular específicamente en las membranas del retículo endoplasmático perinuclear (20)

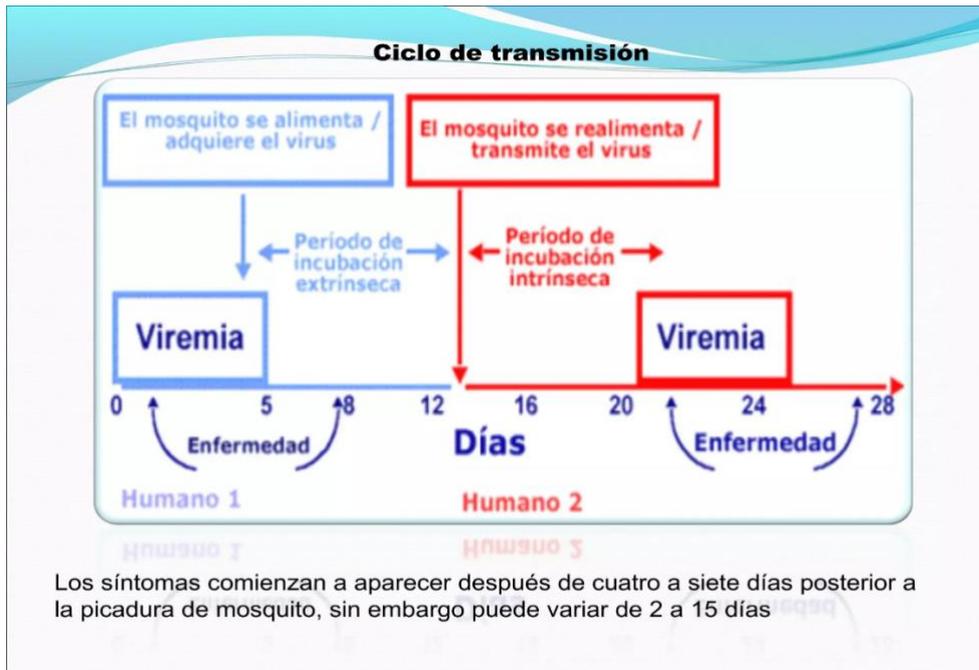


La presencia de regiones terminales 5' y 3' son también importantes en los procesos de replicación del ARN porque contienen motivos complementarios que favorecen el estado cíclico del genoma viral, así también estructuras en asa ("stem-loop"). Sin embargo, esta región requiere la presencia de la región 3' no traducible (3'-UTR) lugar por donde se originaría la fase de elongación para dar lugar moléculas de ARN de doble hebra (24). Estos datos sugieren la importancia de la interacción entre ambos extremos del genoma para dar inicio a la replicación del ARN por la replicasa del virus. Recientemente se descubrió que dos motivos que generan el estado cíclico del genoma denominados CYC son importantes para la interacción física entre 5'-TR y 3'-UTR. La presencia de estructuras terciarias dentro del "stem-loop" denominadas "falsos nudos" y originadas por un falso contacto entre dos nucleótidos de guanina y citosina también cumplen un rol esencial durante la replicación del ARN, principalmente en la síntesis de ARN de cadena negativa (25)

#### GRAFICA DEL CICLO DE INFECCION



**Ciclo de Transmisión:** La transmisión del dengue se mantiene por el ciclo humano-mosquito-humano. Luego que el mosquito ingiere sangre infectante, este puede transmitir el virus a otra persona después de un período de 8 a 12 días de incubación extrínseca. Los síntomas comienzan a aparecer después de cuatro a siete días posterior a la picadura de mosquito, sin embargo, puede variar de 2 a 15 días. La viremia comienza antes de la aparición de los síntomas. (16)



#### 6.4. EPIDEMIOLOGIA A NIVEL MUNDIAL

Las primeras descripciones del Dengue están en una enciclopedia china publicada durante la dinastía Chin (265 a 420 D.C.), fundadora del imperio de China, publicada también durante la dinastía Tan (610 D.C) y la dinastía Sun (992 D.C). Los chinos llamaron a la enfermedad "Intoxicación por agua", haciendo referencia a los mosquitos que se criaban en el agua. (26)

Fue en Filadelfia en 1780 cuando se tuvo certeza de una epidemia de Dengue. En el año 1897 en Australia se reportaron las primeras muertes por la enfermedad. (27)

De acuerdo con Halstead, en el Guinness World Records 2002 el Dengue es la enfermedad transmitida por vectores más frecuente en todo el mundo, más que la malaria(28).

Cerca de 500 millones de personas en las Américas están actualmente en riesgo de contraer dengue. El número de caso de dengue en las Américas se ha incrementado en las últimas cuatro décadas, en tanto pasó de 1.5 millones de casos acumulados en la década del 80, a 16.2 millones en la década del 2010-2019. En 2013, un año epidémico para la región, se registraron por primera vez más de 2 millones de casos, y una incidencia de 430.8 cada 100 mil habitantes.

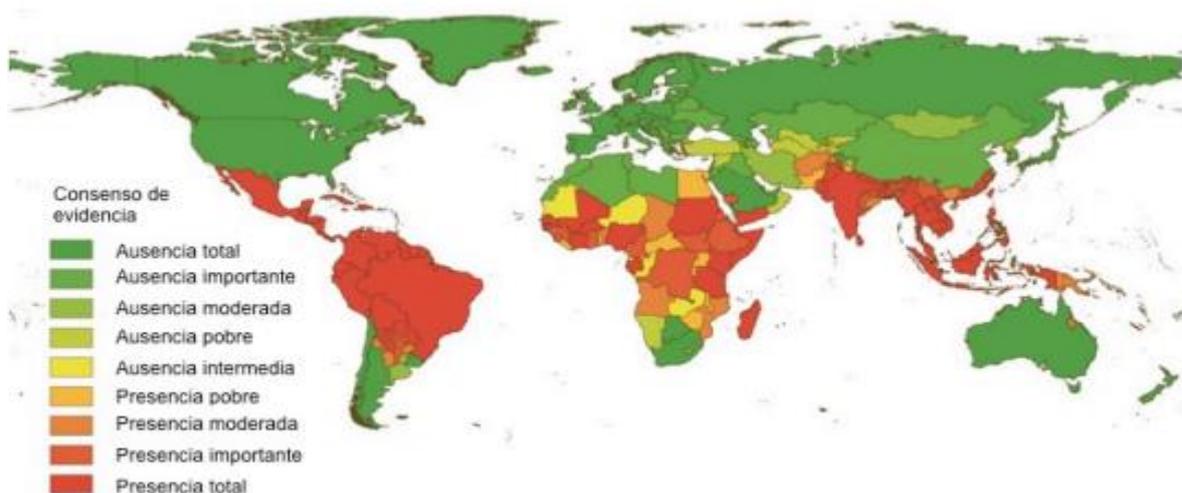


Se registraron también 37.692 casos de dengue grave y 1.280 muertes en el continente. En 2019 se registraron un poco más de 3.1 millones de casos, 28 mil graves y, 1.534 muertes. (18)

La gran mayoría de los casos son asintomáticos o cursan con síntomas leves de los que puede ocuparse el propio afectado, por lo que el número real de casos de dengue es superior al notificado. Además, hay muchos casos que se diagnostican erróneamente como otras enfermedades febriles.

En la actualidad, la enfermedad es endémica en más de 100 países de las regiones de la OMS de África, las Américas, Asia Sudoriental, el Mediterráneo Oriental y el Pacífico Occidental. Las regiones de las Américas, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental son las más gravemente afectadas y en Asia se concentra alrededor del 70% de la carga mundial de la enfermedad.

El número de casos de dengue notificados en todo el mundo alcanzó su nivel máximo en 2019. Todas las regiones se vieron afectadas y por primera vez se registró transmisión de dengue en el Afganistán. En las Américas se notificaron 3,1 millones de casos, de los que más de 25 000 se clasificaron como casos graves. Se notificó un gran número de casos en Bangladesh (101 000), Filipinas (420 000), Malasia (131 000) y Vietnam (320 000). (29)



**Figura 1. Distribución global de dengue modificado de Bhatt et al., 2013.**

En los países en desarrollo ubicados en las zonas tropicales y subtropicales del mundo, se combinan distintos factores que favorecen la transmisión viral a través del principal mosquito vector. Entre estos factores se encuentra el rápido



crecimiento poblacional, la migración rural-urbana, la infraestructura urbana básica inadecuada (suministro de agua poco fiable que lleva al almacenamiento de agua en contenedores cercanos a las casas) y un aumento en el volumen de desperdicios sólidos, como contenedores plásticos desechados y otros artículos abandonados que acumulan agua de lluvia y, por lo tanto, pueden servir de hábitats para las larvas en zonas urbanas. El aumento en el tráfico aéreo y el fracaso en las medidas de control del vector, han contribuido al aumento global del dengue y del dengue grave (21)

## **Nicaragua**

El primer brote de dengue grave de Nicaragua ocurrió en 1985 con 17.483 casos notificados. Esta epidemia fue asociada con síntomas graves y pocos casos mortales de DH. En los siguientes años, se presentaron números relativamente bajos de casos notificados. Para el final de 1994 y 1995, se registraron respectivamente 20.469 y 19.260.

Después de 1994 y de las epidemias de 1995, Nicaragua ha notificado unos números relativamente bajos de casos en 1996 y 1997, que sin embargo volvieron a aumentar y disminuir en los siguientes años.

En el año 2,000 el número de casos aumentó en forma sostenida después de la semana epidemiológica número 21 con un máximo en la semana 26 de 289 casos. A lo largo de las siguientes semanas, fluctuó el número de casos notificados, pero se observó una disminución con respecto a la semana 26. Hasta la semana 42, se notificaron 5.233 casos con una tasa de incidencia de 102,94 casos por 100.000 habitantes.

Los serotipos causantes de la primera epidemia en Nicaragua de 1985 fueron identificados como DEN-1 y 2. El siguiente cuadro presenta la circulación de serotipos en Nicaragua durante los años de 1,990 y 2000. Para la mayoría de los años posteriores a 1993, dos o tres serotipos se encontraron circulando conjuntamente. Además, el DEN-3 fue aislado por primera vez en el 1994 y durante las epidemias de 1995. Para el año 2000, la prueba serológica ha aislado los serotipos DEN-2 y 3. (30)

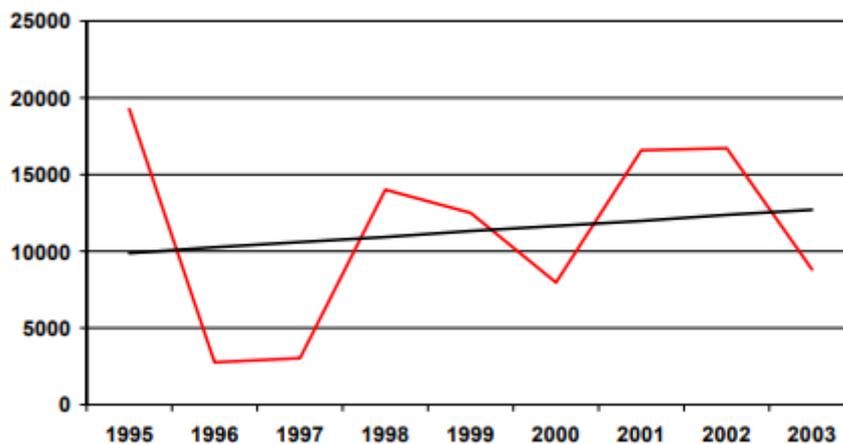


### Serotipos de dengue circulando en Nicaragua en los años 1,990 – 2,000

Año	DEN-1	DEN-2	DEN-3	DEN-4
1990	-	x	-	-
1991	-	-	-	-
1992	-	-	-	-
1993	-	-	-	x
1994	x	-	x	-
1995	x	x	x	-
1996	-	-	-	-
1997	-	-	-	-
1998	-	x	x	-
1999	-	x	x	x
2000	-	x	x	-

Nicaragua registró en 2003 un total de notificaciones de 8,842, disminuyendo en un 47% en relación al año 2002. De los cuales se confirmaron 2,799, que corresponde al 32% de los casos reportados. Los casos de dengue clásico fueron 2,564, representa el 92% y el dengue hemorrágico confirmaron 235 casos que corresponden al 8%. Es importante mencionar que si bien es cierto existe una disminución en la notificación de casos sospechosos en relación al año 2002, sin embargo, en cuanto a los positivos existe un incremento del 21% (489 casos más de dengue confirmados por laboratorio), Este comportamiento obedece a la presencia de múltiples serotipos circulando, haciendo notar que el serotipo 1 que no había circulado desde 1985 desencadenó repuntes por dengue hemorrágico en Managua, Masaya, Granada, Chontales, RAAS.

**Notificación de Casos de Dengue**  
Nicaragua 1995-2003



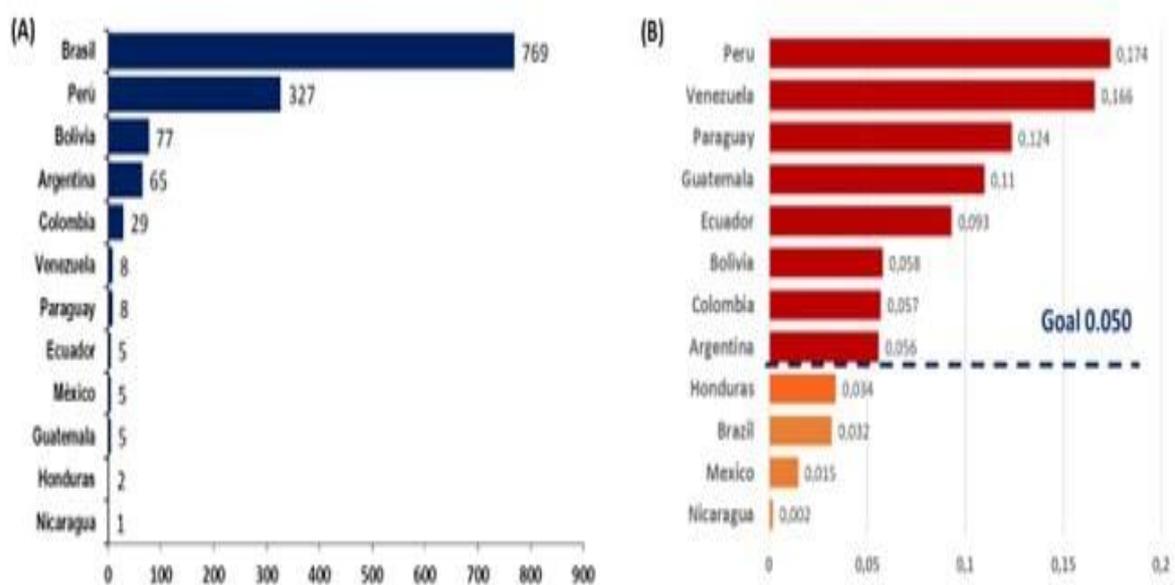
Fuente: Programa Nacional de Dengue ETV MINSA

(30)



En 2023, hasta la semana epidemiológica 25, de los 56 780 casos de dengue notificados, 1016 (1,8%) fueron confirmados mediante pruebas de laboratorio y 10 (0,02%) se clasificaron como casos de dengue grave. El número de casos registrado hasta la semana epidemiológica 25 de 2023 es 2,7 veces superior al registrado en el mismo período de 2022 y un 2,1 veces superior con relación al promedio de los últimos cinco años. En el mismo período, se notificó una defunción y la tasa de letalidad fue del 0,002%. (31)

### Número de muertes por dengue (A) y tasa de letalidad conexas (B) en la Región de las Américas hasta la semana epidemiológica 26 de 2023



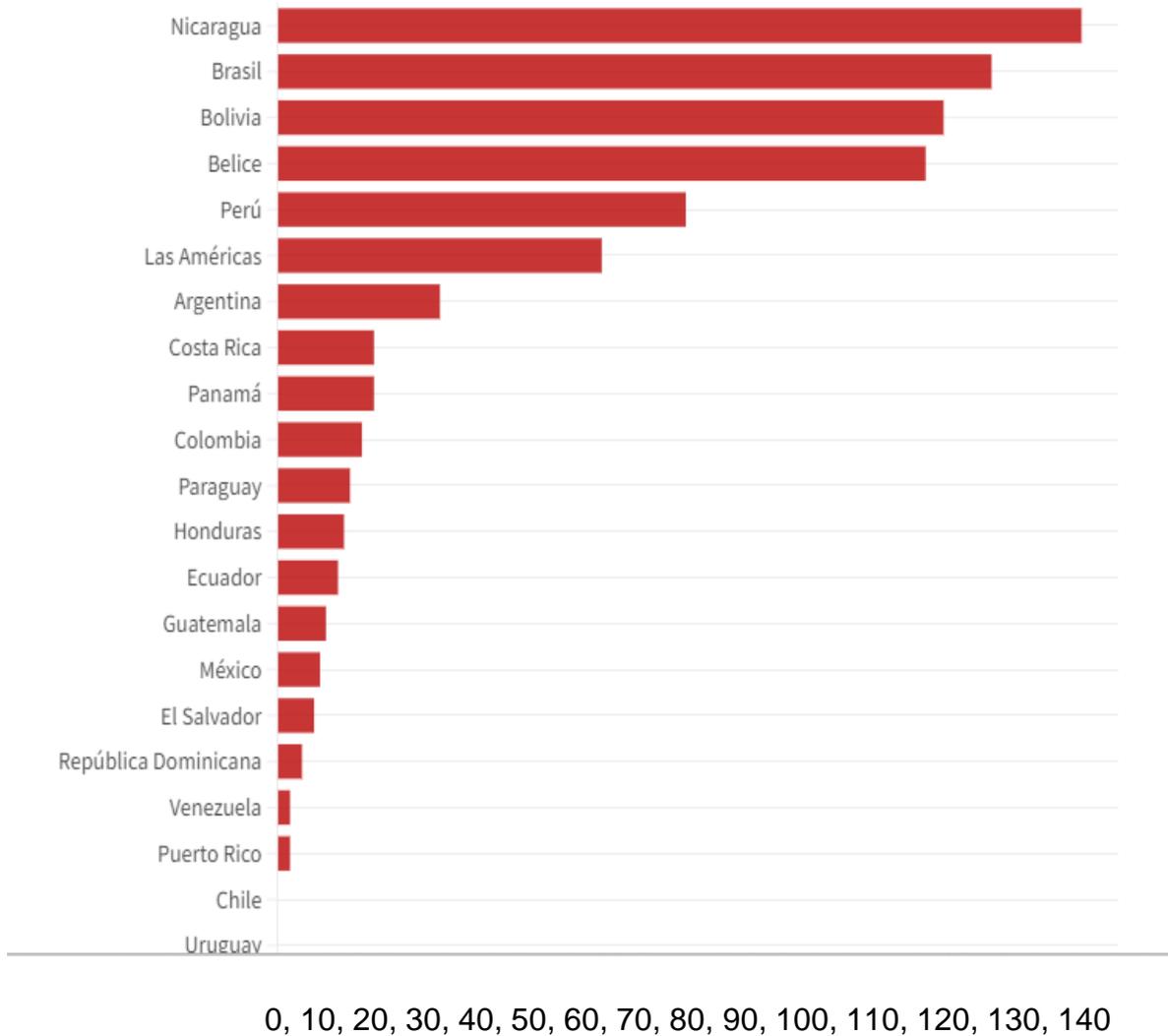
Hasta septiembre de 2023, Nicaragua acumula 94 576 casos sospechosos de dengue, la cifra de contagio más alta de Centroamérica. Mientras, la tasa de contagio por cada 10 000 habitantes es de 134, la más alta de América.

La tasa por habitantes de Nicaragua es mayor que la reportada por Brasil y Bolivia, los dos países que reportan más casos sospechosos de todo el continente, pero al tener poblaciones mucho más grandes tienen una tasa de incidencia más baja.



### Tasa de contagio del dengue en América

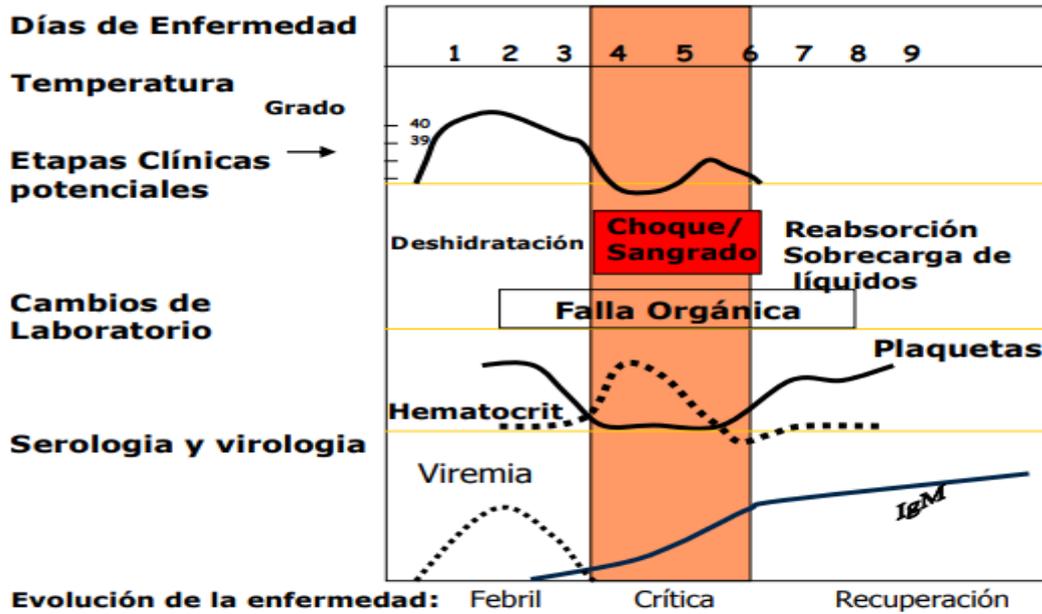
Nicaragua tiene la tasa por cada 10 000 habitantes más alta de contagios de dengue. La epidemia está a poco de superar los cien mil casos, la cifra más alta desde 2019.



(32)

### 6.6. CLINICA DE INFECCION POR DENGUE EVOLUCION CLINICA

**DENGUE** La infección por dengue es dinámica y sistémica. Tiene un espectro clínico amplio que incluye formas graves y no graves de manifestaciones clínicas. Tras el período de incubación (2-6 días), la enfermedad comienza abruptamente y se caracteriza por 3 fases: febril, crítica y recuperación.



**Fase febril** Esta fase febril aguda suele durar 2-7 días. El monitoreo continuo por señales de alarma es crucial para reconocer la progresión a la fase crítica.

**Fase-crítica** La defervescencia se produce entre el día 3 - 7 de la enfermedad, cuando la temperatura desciende a 37,5 - 38oC o menos y se mantiene por debajo de este nivel. Alrededor del tiempo de defervescencia, los pacientes pueden mejorar o empeorar. Aquellos que mejoran después de la defervescencia tienen dengue sin signos y síntomas de alarma.

Aquellos que se deterioran y manifiestan signos de alarma: dengue con signos y síntomas de alarma. Los signos de alarma son el resultado de un aumento significativo en la permeabilidad capilar. Esto marca el inicio de la fase crítica. Algunos de estos pacientes pueden deteriorarse aún más a dengue severo con datos de fuga capilar lo que conlleva a choque (shock del dengue) ± distrés respiratorio, hemorragia grave y / o grave falla multiorgánica. El período de fuga capilar clínicamente significativo usualmente dura de 24 a 48 horas.

**Fase de Recuperación.** Se da una reabsorción gradual del líquido extravascular se lleva a cabo en las próximas 48-72 horas. El estado general del paciente mejora, se estabiliza el estado hemodinámico y diuresis.



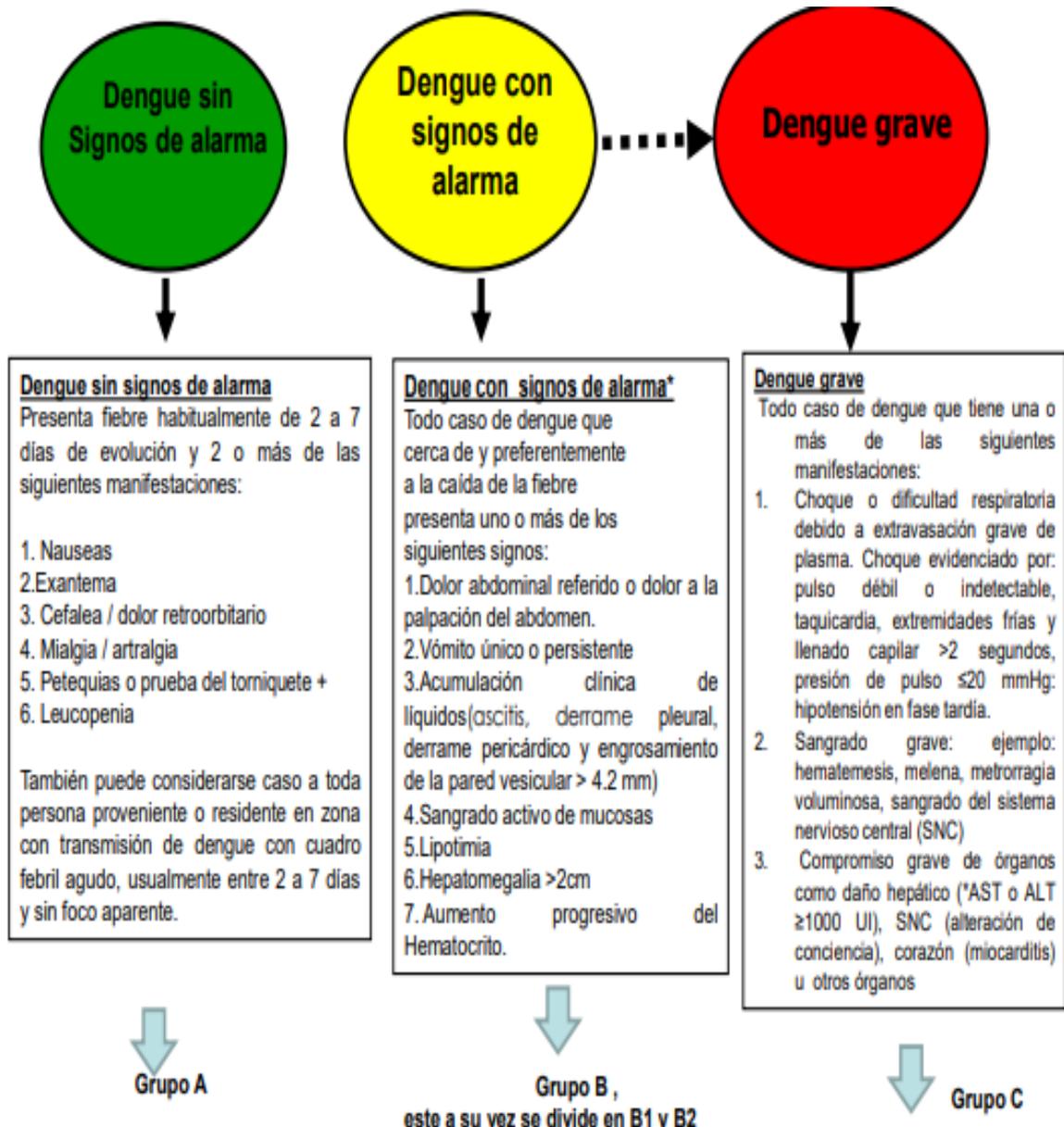
### Resumen de los problemas de cada fase

Fase febril: Deshidratación, Fiebre alta puede causar convulsiones febriles en los niños pequeños; Alteraciones neurológicas.

Fase crítica: Fuga capilar; Hemorragias graves; Deterioro de órganos.

Fase de recuperación: Hipervolemia, y riesgo de infección o infecciones sobre agregadas, síntomas depresivos.(33)

### 6.7. CLASIFICACION DE LA ENFERMEDAD



\* Modificado de Guías para la atención de enfermos en la región de las Américas OPS \* Los valores de AST y/o ALT por arriba de diez veces del valor basal valor normal asociado a otras alteraciones



## 6.8. PATOGENESIS

### Patogenia de la enfermedad

La infección por virus del dengue se transmite por la picadura de un mosquito a través de la epidermis y la dermis, donde se infectan las células inmaduras de Langerhans (células dendríticas epidermales y los queratinocitos). (34)

Se ha demostrado que el primer blanco de este virus en humanos son las células dendríticas de la piel, que funcionan como centinelas del sistema inmune. Durante la salivación del artrópodo, las partículas virales son liberadas en la dermis y las células dendríticas de Langerhans las interiorizan, lo que contribuye a la diseminación del virus cuando estas migran a los ganglios linfáticos. (35)

a entrada del virus a la célula está mediada por la unión del virión a receptores específicos expresados en las células como los receptores de manosa, los receptores DC-SING, CD14, receptor de Manosa, heparán sulfato, Proteínas HSP70/HSP90, proteína reguladora de la glucosa (GRP78), el receptor de laminina y las proteínas TIM y TAM. También existen evidencias que el virus puede entrar en las células humanas a través de la interacción con otras moléculas como los receptores de vitronectina, los receptores scavenger y los receptores KIR. (36)

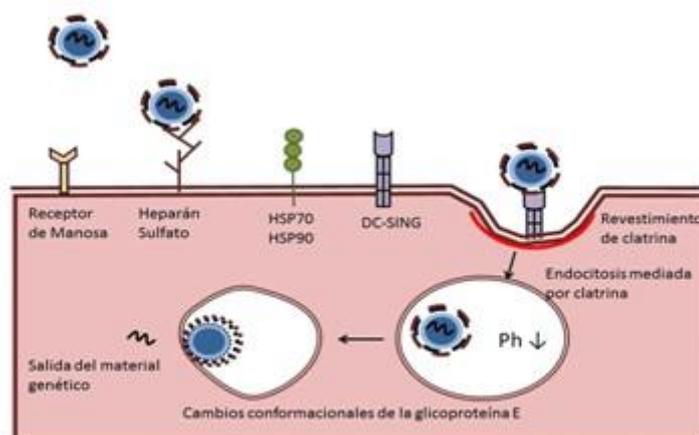


Figura: 2. Ilustra los principales receptores involucrados en la entrada del virus del dengue a la célula hospedera.

Las células infectadas migran del sitio de la infección hacia los nódulos linfáticos, se reclutan los macrófagos y los monocitos, que se convierten en células blancas



de la infección, y el virus se disemina a través del sistema linfático. Como resultado de esta primera viremia la infección se extiende a las células dendríticas (CD) del resto de la economía, monocitos-macrófagos, células endoteliales y hepatocitos. Sin embargo, la viremia no guarda relación con la severidad de la enfermedad, a diferencia de otros marcadores inmunológicos como los niveles de citoquinas proinflamatorias y la población de monocitos-macrófagos. (37)

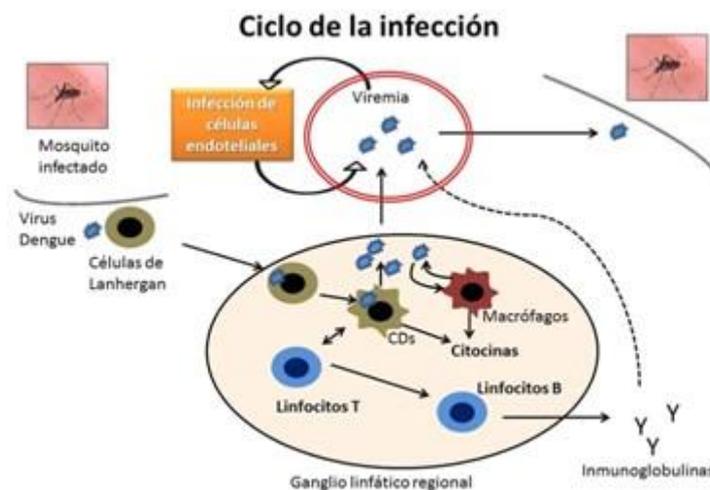


Figura: 3. Ilustra los principales eventos involucrados en las primeras etapas del ciclo de la infección por virus del dengue.

La transmisión del virus del enfermo al mosquito está influenciada por diversos factores, entre ellos, que los títulos de virus en la sangre del paciente, para el caso de los serotipos 1 y 2 requieren un menor número de copias de ARN virales/mL que para los serotipos 3 y 4. (38)

Un estudio revela que en títulos entre 6,2 y 7,5 Log, 10 copias de ARN viral/mL son suficientes para que ocurra infección en más del 50 % de los mosquitos que pican al enfermo. El tiempo de evolución de la enfermedad es otro elemento importante en la infección del mosquito; de forma general el humano es infectante para el mosquito desde 1,5 días antes del inicio de los síntomas hasta 5 días después de iniciado el cuadro. (39)

Durante la infección por virus del dengue el sistema inmune responde con la producción de diversas citoquinas proinflamatorias, las cuales están relacionadas



con la patogenia de la enfermedad. (40) La proteína viral NS1 es reconocida por los receptores tipo toll TLR2 y TLR6 los cuales contribuyen con la expresión de citocinas proinflamatorias. (41) En especial los macrófagos se convierten en uno de los principales productores de citoquinas como IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ . (42) Particularmente el TNF- $\alpha$  se relaciona con las manifestaciones hemorrágicas al favorecer la trombocitopenia y la disfunción endotelial. (43)

Las células dendríticas presentan los antígenos a los linfocitos T<sub>CD4</sub> los cuales se activan y cooperan con los linfocitos B produciendo respuesta de anticuerpos. La respuesta de anticuerpos constituye un elemento crítico en la patogenia de la enfermedad. (44) Está demostrado que los anticuerpos producidos contra una cepa no necesariamente son neutralizantes, esto se debe a diferencias entre los epitope del dominio III de las proteínas de la envoltura. (45) Los anticuerpos no neutralizantes favorecen la entrada de los virus a las células mononucleares con lo cual se amplifica la infección. (46)

Adicionalmente la acción de estos anticuerpos heterólogos provoca la activación del complemento por la vía clásica con el aumento de anafilotoxinas (C3a y C5a) que constituyen un importante mediador del aumento de la permeabilidad vascular. (47) Por otra parte, estos anticuerpos están implicados en la aparición de los fenómenos hemorrágicos, pues se ha descrito que existe reactividad cruzada contra las plaquetas, células endoteliales y proteínas plasmáticas relacionadas con la cascada de la coagulación. (48) (49)

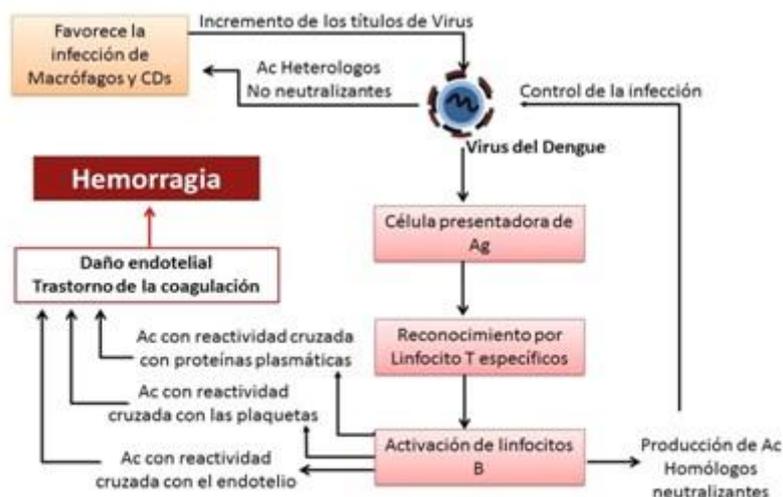


Figura 4. Ilustra los principales efectos inmunopatogénicos de los anticuerpos heterólogos involucrados en la infección por virus del dengue.



El virus del dengue puede infectar directamente las células progenitoras en la médula ósea, de esta manera suprimir la hematopoyesis; adicionalmente la formación de anticuerpos que reconocen por reacción cruzada estructuras de las plaquetas contribuye con la trombocitopenia característica de esta enfermedad. (50) ambos efectos contribuyen con la aparición de hemorragias pues disminuye la producción de plaquetas y aumenta su destrucción en periferia.

Adicionalmente el virus del dengue infecta provocando apoptosis y liberación de citocinas proinflamatorias. (51) Estos eventos traen como consecuencia disfunción endotelial y aumento de la permeabilidad vascular lo que facilita la aparición de fenómenos hemorrágicos. (52) Finalmente durante la infección por el virus del dengue ocurre necrosis de los hepatocitos secundaria a la infiltración de este órgano por células del sistema inmune como LTC y NK, las cuales destruyen los hepatocitos infectados. Como consecuencia de este hecho en los pacientes se elevan las aminotransferasas y el hígado disminuye su capacidad de producir factores de la coagulación y proteínas plasmáticas lo cual contribuye de manera decisiva a la aparición de fenómenos hemorrágicos. (53)

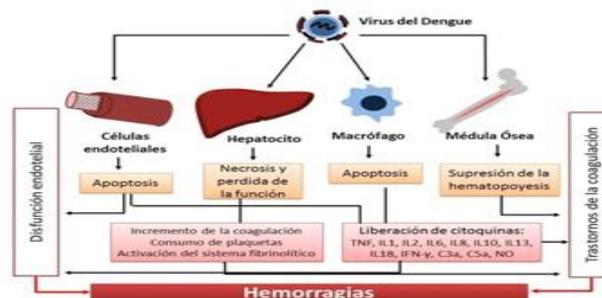


Figura: 5. Ilustra los principales mecanismos inmunopatogénicos involucrados en la aparición de fenómenos hemorrágicos durante la infección por virus del dengue.

## 6.9. RESPUESTA HUMORAL Y CELULAR DEL DENGUE INMUNIDAD CELULAR

Las proteínas que generan una respuesta inmunológica celular son NS3 Y NS5. Aun cuando el dengue curse con un cuadro grave, se presenta como un episodio agudo autolimitado, aunque, desde luego, si no es tratado de forma eficaz, puede



ocasionar la muerte. (54) Algunas moléculas del MHC I o II han sido asociadas a protección y se han descrito células CD8+ con fenotipos antivirales. (55) DENG VAXIA® está constituida de cuatro virus quiméricos, la región que genera anticuerpos de manera predominante, preM/M-E está clonada en el contexto de la región no estructural de la cepa vacunal del virus fiebre amarilla 17D. Se especula que las clonas de CD4+ o CD8+ específicas de fiebre amarilla no coadyuvan eficazmente con las clonas de células B específicas de DENV para generar una respuesta óptima protectora. (56) Las pruebas clínicas muestran que las viremias, en los casos de aquéllos vacunados que se infectaron, son de la misma magnitud que de los controles no vacunados. (57) Se considera que, en determinadas circunstancias, las clonas de reconocimiento cruzado pueden estar relacionadas con el desarrollo de manifestaciones graves como la fuga de plasma y el choque hipovolémico (58) Estas observaciones son controversiales puesto que la proporción de células T de reacción cruzada es pequeña y de hecho hay una disminución general de células T por apoptosis durante la infección. (59)

En todo caso, la vacunación con  $\Delta E$  teóricamente debe disminuir el riesgo de desarrollo de este tipo de manifestaciones, ya que genera clonas tanto serotipo específicas para los cuatro serotipos virales como aumento de células T de reacción cruzada. En un artículo reciente se reportó que el perfil de citocinas generado por la vacunación con DENG VAXIA® comparado con el perfil de citocinas producido por sujetos inoculados con placebo e infectados por DENV es muy similar. (60)

Parece claro que los sujetos que desarrollan manifestaciones graves tienen viremias altas y un perfil de citocinas proinflamatorias, en particular TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-8; estas citocinas tienen como característica común que alteran la permeabilidad vascular y promueven el estado de choque. (61)

Se le llama tormenta de citocinas a una reacción inmunológica potencialmente fatal que consiste en una retroalimentación entre las células inmunológicas, incluyendo células presentadoras de antígeno y las citocinas generadas; en otras palabras a mayor reacción celular mayor concentración de citocinas. En el caso de las infecciones por DENV, la estimulación de la respuesta de memoria



heteróloga por la infección de un serotipo distinto resulta en la producción de citocinas que a su vez estimulan la proliferación de células de memoria y el incremento en la concentración de esas citocinas, de tal suerte que este círculo no se detiene hasta que la estimulación antigénica cesa, aunque por supuesto, la respuesta puede desembocar en la muerte del sujeto que desarrolla esta patología.(62) No obstante, los fenómenos de fuga plasmática, disminución del número de plaquetas y la hipotensión también pueden observarse durante infecciones primarias, por lo que la tormenta de citocinas es actualmente un elemento más que puede explicar la patología.

## **INMUNIDAD HUMORAL**

Jordi Casals-Ariet, a finales de la década de 1950, estableció la taxonomía de los arbovirus (virus transmitidos por artrópodos) basándose en las reacciones serológicas entre diversos virus, de tal forma que bajo el razonamiento simple de que los virus que reaccionaban de manera similar con un suero de referencia pertenecían al mismo grupo, se desarrolló la taxonomía de los flavivirus, que años después fue corroborada por análisis filogenéticos con base en la secuencia de nucleótidos del genoma. (63)

Las reacciones serológicas entre los miembros del género de los flavivirus definen determinantes antigénicos de grupo, el suero reconoce a todos los flavivirus; determinantes antigénicos de complejo, en los que el suero reconoce a algunos flavivirus, pero no a todos, por ejemplo el serocomplejo de encefalitis japonesa que incluye el virus West Nile, el virus Kunji y el mismo virus Japanese Encephalitis, entre otros; y determinantes antigénicos de tipo, cuando el suero reconoce específicamente a un solo virus, por ejemplo virus del dengue serotipo 1. Es posible encontrar sueros con reacción intermedia entre determinantes antigénicos de grupo y complejo que reciben el nombre de supercomplejo, entrecomplejo y de tipo, llamados de subcomplejo. (64)

Así pues, los anticuerpos generados después de una primera infección por el DENV serán una mezcla de anticuerpos contra grupo, complejo y de tipo o desde otro punto de vista, serán una mezcla de anticuerpos de reacción cruzada o hetero típicos y anticuerpos específicos de serotipo.



Se asume que los anticuerpos de tipo específico generan protección de por vida, mientras que los anticuerpos de reacción cruzada están relacionados con la patología de los casos graves; ambos tipos de anticuerpos permanecen durante toda la vida del sujeto. (65) De acuerdo con el comportamiento epidemiológico del dengue, se supone que existe un tipo de anticuerpos de reacción cruzada que son protectores, estos anticuerpos son los responsables del fenómeno de protección cruzada de corta duración, la cual puede durar entre nueve y 12 meses.(66)Evidencia reciente desafía estos conceptos, dado que se ha determinado que la respuesta cruzada es esencial para la protección del sujeto a una infección por otro serotipo de DENV, que hay reinfecciones por el mismo serotipo y que en realidad no existen estos anticuerpos de reacción cruzada de corta duración, puesto que es muy difícil determinar si lo que se observa es en verdad protección o si es infección inaparente. (67) (68)

En cuanto a las clases de los anticuerpos, las infecciones, sean primarias o secundarias, generan perfiles esperados al día 10 del inicio de la fiebre, esto es: infecciones primarias IgM+ e infecciones secundarias IgM+/IgG. Aparentemente no hay relación con los perfiles de isotipos de IgG, pues tanto en infecciones primarias como en secundarias la IgG1 es la más abundante. (61)

No se conoce con precisión la proporción de anticuerpos de tipo específico con respecto a los anticuerpos de reacción cruzada; sin embargo, se estima que los de reacción cruzada se encuentran siempre en mayor proporción. (69) De tal forma que la respuesta inmunológica humoral de reacción cruzada explica fenómenos asociados a relación hospedero virus, como la ausencia o desarrollo de síntomas en una infección hasta los patrones de transmisión del dengue en la población humana. (70) (71)

El fenómeno más estudiado relacionado con los anticuerpos de reacción cruzada que se generan durante una infección por DENV es la potenciación inmunológica (ADE por sus siglas en inglés). El concepto fue desarrollado a fines de la década de 1970 por Scott Halstead y establece que a diluciones sub neutralizantes, el suero de un sujeto infectado por DENV ocasiona una súper infección de las células blanco (células de la serie monocito-macrófago y células dendríticas), lo que resulta en una mayor carga viral. (72) Dado que al diluir el suero se pierde



la actividad neutralizante y paralelamente los anticuerpos que reconocen el tipo, se asume que los anticuerpos responsables del ADE son los de reacción cruzada. (73) Por otro lado, debido a que el único factor pronóstico de desarrollo de manifestaciones graves del dengue (fiebre hemorrágica por dengue/dengue grave) es la viremia elevada y que el ADE supone una viremia incrementada, se cree que el ADE es el mecanismo que determina la patología de las infecciones graves por DENV. (74) Como la presencia del anticuerpo de reacción cruzada es necesaria, una consecuencia del ADE es que los casos graves deberían ocurrir en infecciones secundarias o postsecundarias, de allí la creencia general de que el dengue es más grave en la segunda infección.

Experimentos in vitro confirman la existencia del fenómeno y en algunos modelos animales la transferencia pasiva de anticuerpos produce altas viremias y fenómenos relacionados con la patología en humanos; no obstante, no hay una corroboración definitiva de que el ADE opere in vivo en humanos, ni de que el riesgo de manifestaciones graves sea mayor en infecciones secundarias que en infecciones primarias como debería suceder si el ADE determinara la patología. (75) A pesar de la asociación entre las infecciones secundarias por DENV y dengue grave, la mayoría de las infecciones secundarias son subclínicas o leves, por lo que los factores determinantes de la gravedad siguen siendo poco claros. Lo que se ha observado es que las reinfecciones con intervalos pequeños entre la primera y la segunda, por lo general presentan cuadros clínicos más leves que aquéllas con intervalos mayores de 2.6 años. (76)



Con todo, la hipótesis del ADE ha guiado el diseño de las estrategias de desarrollo de vacunas contra el dengue. En virtud de que la infección primaria por el virus salvaje sólo confiere inmunidad protectora contra el serotipo causante de la infección, los anticuerpos de reacción cruzada estimularían el ADE en la segunda infección provocada por un serotipo diferente; así pues, el consenso de la comunidad científica fue que el candidato a vacuna contuviera los cuatro serotipos del virus para evocar la inmunidad humoral protectora en la vacunación. (77) DENGIVAXIA® y los candidatos a vacuna que actualmente están en desarrollo tienen esa característica. Por otra parte, los ensayos clínicos han mostrado que DENGIVAXIA® protege en 93% contra el dengue grave cuando se aplica en mayores de nueve años. (61)

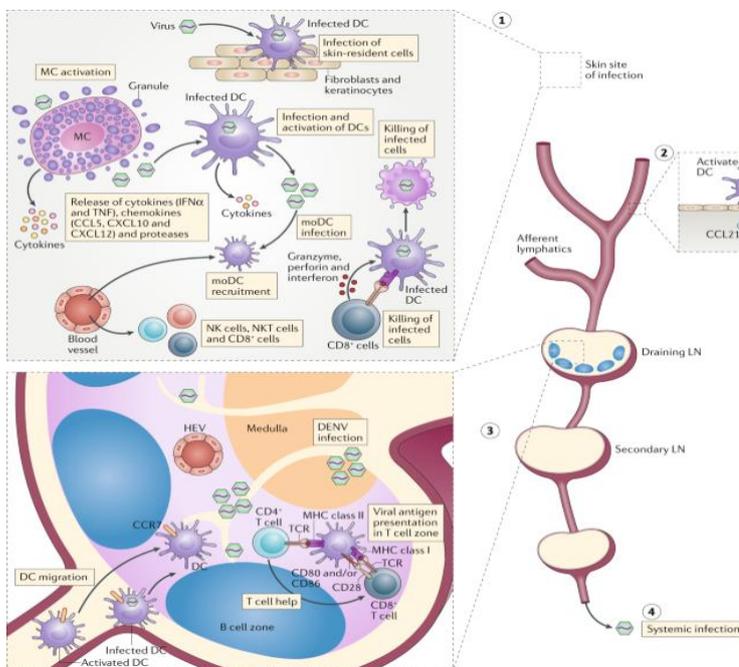


Fig. 1 Inicio de la inmunidad contra el virus del dengue en la piel y drenaje en los ganglios linfáticos.

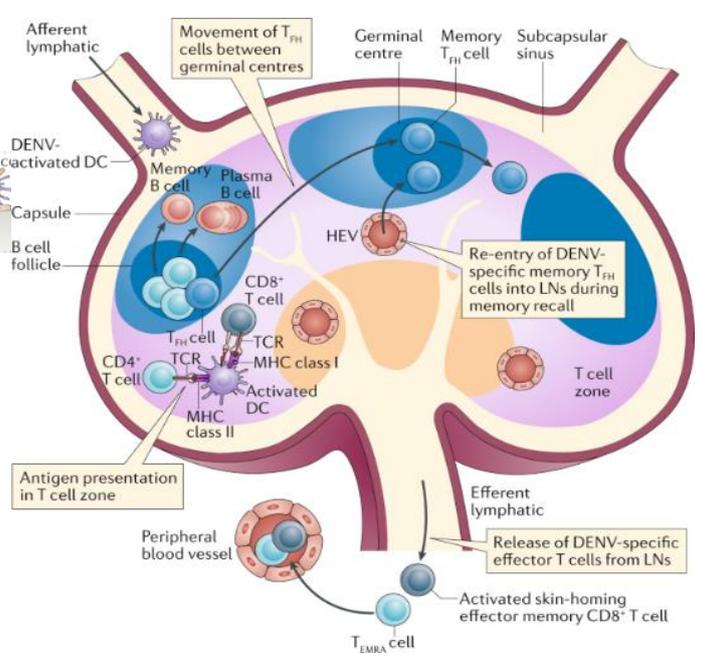


Fig. 2 Respuestas adaptativas de las células T durante la infección por el virus del dengue

Finalmente, no se sabe con exactitud la duración de la respuesta inmunológica humoral protectora contra el DENV, aunque estudios llevados a cabo en Nicaragua y Perú sugieren que la protección en cuanto a la presentación de síntomas podría durar hasta aproximadamente tres años; sin embargo, la



protección contra infección es mucho menor que ese tiempo, de hecho se han documentado reinfecciones por el mismo serotipo, lo cual sugiere que la inmunidad contra el DENV, aun de tipo específico, no es de por vida. (78) (79)

### **6.10. PAPEL DEL CALCIO**

El calcio (Ca) es un micronutriente del grupo de los minerales que debe, siempre, formar parte de nuestra dieta. Es el elemento mineral más abundante en nuestro organismo, ya que forma parte importante del esqueleto y los dientes. Supone alrededor del 2% del peso corporal.

De todo el calcio corporal, el 99% se encuentra en el esqueleto y los dientes en forma de hidroxapatita, un compuesto cristalino que incluye fósforo ( $\text{Ca}_{10} [\text{PO}_4]_6 [\text{OH}]_2$ ). El resto (1%) se encuentra en los tejidos blandos y en los fluidos corporales (80)

#### **Funciones del calcio**

Las funciones del calcio, como antes hemos apuntado, se pueden concretar en dos: a) funciones esqueléticas y b) funciones reguladoras

#### **Función Esquelética**

El Ca es parte fundamental de nuestro esqueleto (huesos) y de los dientes. El hueso está formado por una matriz proteica que se mineraliza de forma mayoritaria con calcio (el más abundante), fosfato y magnesio; para ello es imprescindible un correcto aporte dietético de Ca, fósforo y vitamina D.

El tejido óseo está formado por dos tipos diferentes, el hueso compacto (cortical) (80%), cuya función es la de dar dureza al esqueleto y ejercer la función estructural, y el hueso trabecular (20%), cuya función es metabólica.

A pesar de su apariencia compacta, el hueso es una estructura dinámica que está en constante remodelación, destruyéndose (resorción) y formándose (formación) continuamente (80)



## **Función no Esquelética**

El Ca (el Ca iónico:  $Ca^{2+}$ ) es un componente celular imprescindible para mantener y/o realizar las diferentes funciones especializadas de prácticamente todas las células del organismo. Estas funciones, no esqueléticas, podemos dividirlas en estructurales y propiamente reguladoras. Dentro de las primeras, el Ca está implicado en el mantenimiento de estructuras celulares (orgánulos), gránulos de secreción, membranas celulares y subcelulares y estructuras nucleares (como los cromosomas) (81)

En relación con su función reguladora, este mineral puede ejercer su función de forma pasiva o activa. Pasivamente, los niveles de calcio plasmáticos regulan las reacciones enzimáticas. La función reguladora activa la ejerce la concentración intracelular de  $Ca^{2+}$ .

El mantenimiento de una concentración adecuada de  $Ca^{2+}$  citoplasmático (del orden de  $0,1 \mu\text{mol/l}$ ), respecto al extracelular (del orden de  $1,1 \text{mmol/l}$ ), puede mantener una función óptima de la célula; en cambio, un incremento no regulado en el citoplasma puede iniciar un proceso de daño y muerte celular. (82)

Debido a su actuación como segundo mensajero intracelular, el calcio interviene en la proteólisis intracelular, apoptosis y autofagia, activación/desactivación enzimática (por fosforilación/desfosforilación), secreción (incluida la de neurotransmisores y neuromoduladores en el sistema nervioso), contracción muscular, agregación plaquetaria, bioenergética celular, transcripción génica, etc. (83)

## **Homeostasis del calcio**

Debido a sus importantes funciones, el  $Ca^{2+}$  debe estar estrechamente regulado, manteniéndose sus concentraciones plasmáticas dentro de unos rangos estrechos ( $1,1$  y  $1,3 \text{mmol/l}$ ). Para ello existe una respuesta precisa frente a la hipocalcemia o la hipercalcemia en la que intervienen la parathormona y el  $1,25$  dihidroxicolecalciferol ( $1,25 [OH]_2$  vitamina  $D_3$ ), y la calcitonina, y recientemente se ha involucrado a la vitamina K por su relación con la osteocalcina. Estos reguladores humorales actúan a nivel óseo, renal e intestinal, afectando la



movilización y depósito de calcio en el hueso, su absorción intestinal y su excreción renal. La homeostasis del calcio se relaciona estrechamente con la de los fosfatos a través del factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) y el factor Klotho (84)

### **Calcio y enfermedad**

El  $\text{Ca}^{2+}$  juega un papel esencial en innumerables funciones del organismo, modificando sus concentraciones intracelulares y poniendo en marcha vías de señalización intracelular. Sin embargo, cuando la homeostasis falla se producen alteraciones patológicas diversas como consecuencia de alteraciones en los niveles citoplasmáticos de este catión. En este ámbito se incluyen enfermedades musculoesqueléticas, neurológicas, neurodegenerativas, cardiomiopatías, etc., consecuencia de la alteración de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  (85)

#### **6.11. PAPEL DEL CALCIO EN LA ENFERMEDAD DEL DENGUE.**

El ion calcio tiene un número de coordinación flexible de 4-8, una geometría irregular de coordinación y cinéticas de unión rápidas, lo cual maximiza su potencial para interactuar con distintos ligandos. El  $\text{Ca}^{2+}$  tiende a precipitar aniones inorgánicos y orgánicos (a un rango del mM), por lo tanto, una alta concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  es incompatible con la vida, de tal manera que las células ejercen control sobre este ion secuestrándolo, compartimentalizándolo o expulsándolo. (85)

El control en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  en los distintos compartimentos celulares u organelos es ejercido a través de la coreografía molecular de un repertorio de moléculas de señalización de  $\text{Ca}^{2+}$ , incluyendo canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , transportadores de  $\text{Ca}^{2+}$ , receptores, amortiguadores de  $\text{Ca}^{2+}$ , proteínas de respuesta a  $\text{Ca}^{2+}$  (por ejemplo, enzimas sensibles a  $\text{Ca}^{2+}$  y factores de transcripción) que se distribuyen en el citoplasma, en el retículo endoplásmico/sarcoplásmico (RE/RS), en el complejo de Golgi, en la mitocondria, en el núcleo o en la matriz extracelular. (86) (87)

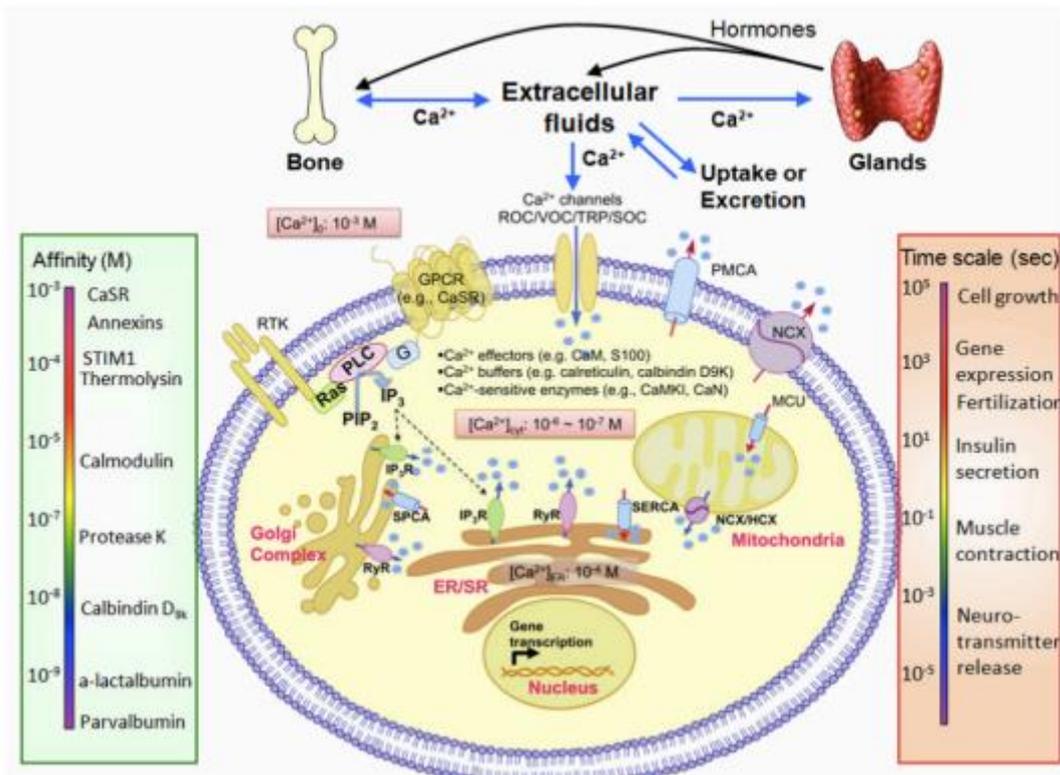
Del  $\text{Ca}^{2+}$  que entra al citosol sólo una pequeña proporción termina siendo  $\text{Ca}^{2+}$  libre, porque la mayor parte se une rápidamente a los amortiguadores y una menor cantidad, a los efectores. Tras un estímulo extracelular, el  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico



libre aumenta rápidamente por la entrada del  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular a través de la membrana plasmática vía canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , tales como los canales operados por voltaje (VOC), los canales operados por receptor (ROC), canales iónicos receptor del potencial transitorio (TRP por sus siglas en inglés) y los canales operados por reservorios (SOC por sus siglas en inglés); o por la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  de reservorios internos (como el RE, el complejo de Golgi, y los lisosomas) a través de los receptores de inositol-1,4,5-trifosfato (IP3R) y de los receptores de rianodina (RyR) debido a la activación de receptores de membrana (receptor acoplado a proteínas G o GPCR y el receptor de tirosina cinasa o RTK) y la subsecuente síntesis del IP3. En el estado basal, la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico se mantiene en el rango submicromolar, expulsando  $\text{Ca}^{2+}$  fuera de la membrana plasmática vía la ATPasa de  $\text{Ca}^{2+}$  (PMCA) y el intercambiador  $\text{Na}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$  (NCX), o bombeando  $\text{Ca}^{2+}$  de regreso a los reservorios internos a través de la ATPasa de  $\text{Ca}^{2+}$  del retículo sarcoplásmico/endoplásmico (SERCA) o la ATPasa de  $\text{Ca}^{2+}$  de la vía secretoria (SPCA). En la mitocondria, el  $\text{Ca}^{2+}$  puede pasar fácilmente a través de los poros de la membrana exterior mitocondrial y cruzar la membrana interior mitocondrial a través del uniporter de  $\text{Ca}^{2+}$  embebido en la membrana. El  $\text{Ca}^{2+}$  sale de la mitocondria por la apertura de un poro de transición permeable (PTP) en la membrana interior mitocondrial y por el intercambiador de  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  (NCX).

La interacción entre los virus y el  $\text{Ca}^{2+}$  en las células infectadas se puede clasificar en tres categorías principales:

- (1) las proteínas virales directa o indirectamente, afectan la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  al alterar la permeabilidad de la membrana y/o manipulando componentes clave del aparato de señalización de  $\text{Ca}^{2+}$ .
  - (2) las proteínas virales se unen directamente al  $\text{Ca}^{2+}$  para tener integridad estructural o funcionalidad.
  - (3) interacciones críticas entre el virus y la célula huésped dependen de las proteínas o las vías de señalización celulares reguladas por el  $\text{Ca}^{2+}$ .
- (87)



**Esquema de la maquinaria de señalización del Ca<sup>2+</sup>, el rango de afinidades de unión a Ca<sup>2+</sup> y la escala de tiempo de actividades moduladas por Ca<sup>2+</sup>.**

La homeostasis de Ca<sup>2+</sup> extracelular es mantenida por la acción coordinada de hormonas, células del hueso y el balance entre la absorción y secreción de Ca<sup>2+</sup> en el intestino y el riñón. La homeostasis intracelular de Ca<sup>2+</sup> se logra a través de la exquisita coreografía de la caja de herramientas de señalización de Ca<sup>2+</sup>. Las proteínas de unión al Ca<sup>2+</sup> tienen afinidades que varían 10<sup>6</sup> veces o más, dependiendo de su localización y función (panel de la izquierda). El Ca<sup>2+</sup> puede ejercer efectos a corto plazo activando la liberación de neurotransmisores en microsegundos. Las señales, también pueden iniciar efectos de “largo plazo” modulando la expresión de genes (panel de la derecha) (21)

**CALRETICULINA** La calreticulina (CRT) se encuentra en el lumen del RE, es codificada por un único gen y no existe evidencia de que haya splicing alternativo del RNAm para la CRT. La proteína tiene un peso molecular de 46 kDa, está conformada por tres dominios: el N, el P y el C. Las funciones principales de la CRT en el lumen del RE son la de chaperona y la regulación de la homeostasis del Ca<sup>2+</sup>. Se ha observado que cuando hay niveles elevados de la CRT, aumenta la cantidad de Ca<sup>2+</sup> en las reservas intracelulares como el RE y que las células



deficientes en CRT tienen una reducción en la capacidad de almacenamiento del  $\text{Ca}^{2+}$  en el RE. (21)

En el caso del DENV existe evidencia limitada de la relación entre la infección causada por este virus y la homeostasis de calcio, aunque se ha reportado hipocalcemia en los pacientes con dengue. Esta hipocalcemia puede ser más pronunciada en las formas severas de la enfermedad, aunque los bajos niveles de calcio no han demostrado estar asociados con la mortalidad de los pacientes. En estudios in vitro el  $\text{Ca}^{2+}$  ha demostrado ser esencial para la actividad citotóxica de la citotoxina de macrófagos (CF2) inducida por DENV2 y para la producción y actividad de la citotoxina CF en las células de bazo. El  $\text{Ca}^{2+}$  parece tener un papel en la inducción de las células Th específicas para el DENV. El antígeno del dengue estimula la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a las células Th, el cual es necesario para la proliferación de estas células, esto último fue demostrado al usar fármacos bloqueadores de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  o al poner a las células Th en un medio sin  $\text{Ca}^{2+}$  y observar que estas células no proliferaron. Existe evidencia de que la producción de nitrito en respuesta a la infección por DENV también es dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  y puede ser inhibida por fármacos bloqueadores de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$ . Por lo tanto, el calcio parece tener un papel importante en la respuesta inmune a dengue, aunque las interacciones son complejas y las implicaciones clínicas precisas de estas interacciones no han sido definidas claramente. (21)

### **FUGA PLASMÁTICA**

El regulador endotelial Ang-2 podría ser un predictor de la gravedad en el dengue.

Debido a que el choque por dengue produce una disminución acentuada de la resistencia vascular, probablemente relacionada con la pérdida de la integridad capilar y la consecuente extravasación de líquidos, se asume que las formas graves del dengue deben obedecer a un proceso de disfunción endotelial. (88) (89) Este mismo efecto se produce en otros procesos como la inflamación grave o la malaria cerebral, en cuyo desarrollo se observa que la disfunción endotelial desempeña un papel importante. (90)



En los casos graves de dengue se ha observado el comportamiento de varios reguladores endoteliales, entre los cuales se cuentan la angiopoyetina-1 (Ang-1) y la angiopoyetina-2 (Ang-2), que parecen ser la llave de la regulación de la integridad vascular. (91) En pacientes con fiebre hemorrágica y choque por dengue se ha reportado la disminución de los niveles séricos de Ang-1 y el incremento en los niveles séricos de Ang-2 en la fase aguda en comparación con la fase de convalecencia y con individuos sanos de control. Al parecer, este desequilibrio contribuye a la fuga plasmática que se da en los casos de fiebre hemorrágica y choque por dengue (92)

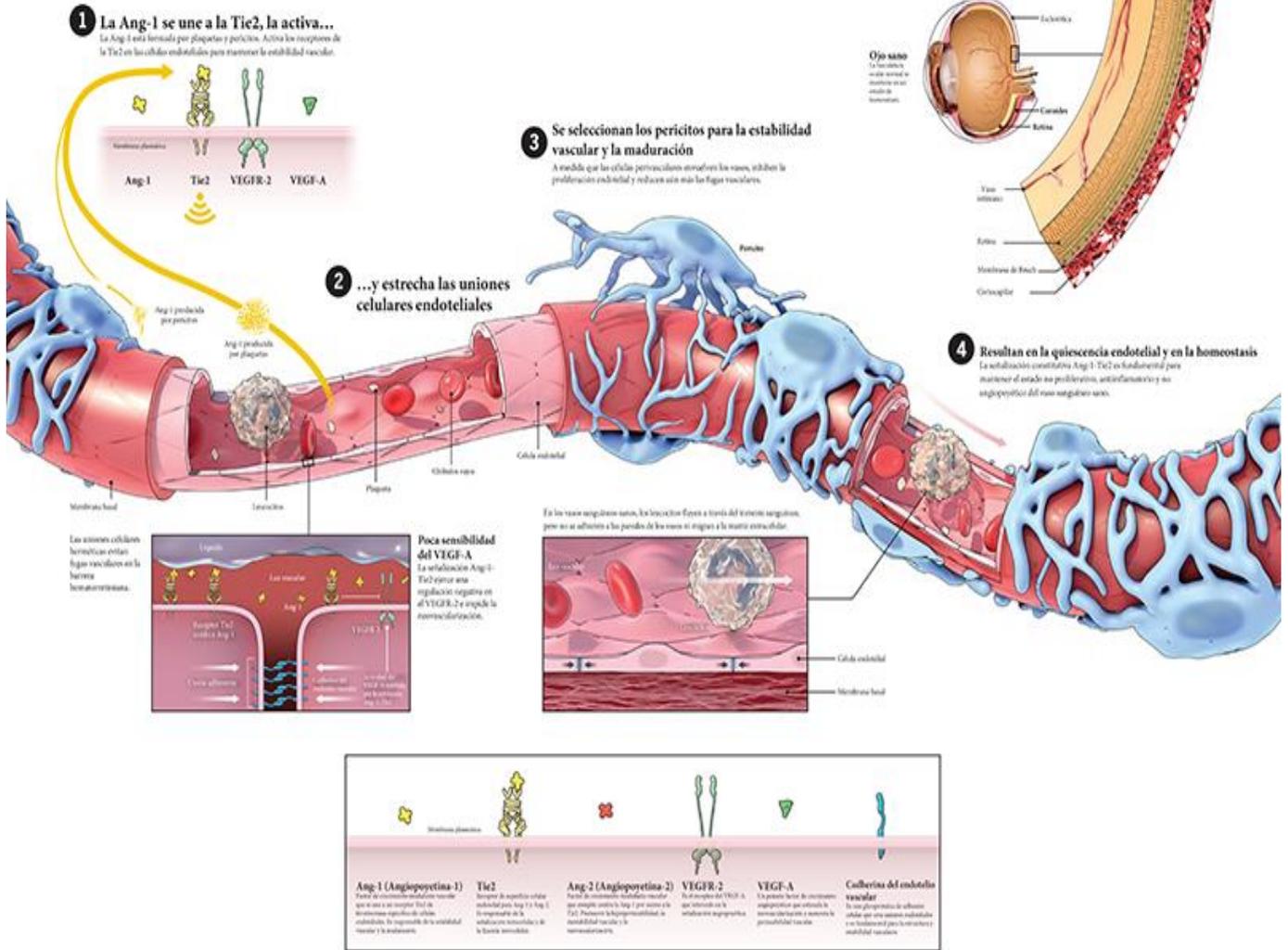
Otro protagonista en la regulación endotelial es el factor de crecimiento endotelial vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF), el cual promueve el crecimiento, la proliferación y la migración de células endoteliales. El VEGF aumenta en pacientes con dengue grave. Asimismo, la acción conjunta del VEGF y la Ang-2 se ha asociado significativamente con la fuga plasmática. (93)

Otro marcador importante de la angiogénesis es la endoglina, la cual se expresa de forma acentuada en las células endoteliales, en especial, en el tejido inflamado. La forma soluble de la endoglina es liberada en la membrana celular y entra en circulación, probablemente por ruptura, mediante las metaloproteinasas de la matriz, causando disfunción endotelial. En un estudio sobre el uso de la endoglina soluble como predictor de la malaria, se encontró que los niveles superiores a 12 pg/ml se presentaban con mayor frecuencia en la malaria grave (46,5 %) y en la malaria complicada (85,7 %) que en otras condiciones causantes de fiebre (0 %), así como en los individuos sanos de control (0 %) (89)



# Angiopoyetinas: Reguladoras clave de la estabilidad vascular

La Ang-1 favorece la estabilidad vascular que mantiene los vasos sanguíneos sanos



La Ang-2 favorece la inestabilidad vascular durante la enfermedad, ya que bloquea la activación Ang-1-Tie2





## HIPOCALCEMIA INFECCION POR DENGUE

La infección por el dengue tiene una alta morbilidad y mortalidad, el calcio regula muchos procesos fisiológicos, como la transmisión neuromuscular, la contractibilidad cardíaca, la liberación hormonal, la coagulación de la sangre y es esencial para la función muscular. El bajo nivel de calcio está presente en casi el 80% de los casos de dengue y se asocia más con casos graves. La hipocalcemia mejora la unión del virus del dengue a los macrófagos de monocitos y a las células de las células T y linajes de células B en la infección por dengue. (94)

Se ha demostrado hipocalcemia en otras enfermedades tropicales, como la leptospirosis y la malaria, y se observa con mayor frecuencia en infecciones graves; sin embargo, los efectos clínicos de los niveles bajos de calcio en sangre en estas afecciones no están claros. Se han sugerido varias causas para los niveles bajos de calcio en sangre, incluida la actividad reducida de la adenosina trifosfatasa (ATPasa) de Na<sup>+</sup>-K, la actividad reducida de la ATPasa Ca<sup>2+</sup>, deficiencia adquirida de hormona paratiroidea, insuficiencia renal de alfa hidroxilasa, ingesta reducida de vitamina D en la dieta y ingesta reducida de calcio en la dieta. Se han demostrado niveles bajos de calcio en la sangre en la infección por dengue y tal vez estén presentes en más del 80 % de los pacientes. A menudo no se reconoce lo suficiente, pero puede presentarse con tetania. Existe cierta evidencia de que la hipocalcemia puede ser más pronunciada en las formas más graves de dengue, aunque los niveles más bajos de calcio no han mostrado una asociación con la mortalidad.(95)



## 6.12. DIAGNOSTICO CLINICO LABORATORIO E INMUNOLOGICO

<b>Inhibición hemaglutinación</b>	Es la que se utiliza con mayor frecuencia, es sensible, fácil de realizar, requiere un equipo mínimo, pero los anticuerpos IH pueden persistir por tiempos prolongados, de hasta 48 años o más, por lo que esta prueba es ideal para estudios seroepidemiológicos.
<b>Fijación de complemento</b>	Es utilizada rutinariamente en el diagnóstico serológico de dengue. Es más difícil de realizar, se basa en el principio de que el complemento es consumido durante las reacciones de antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos CF aparecen posteriores a los anticuerpos HI, son específicos de infección primaria, y persisten por períodos cortos.
<b>Neutralización</b>	Es la más específica y sensible para los virus dengue. En general los títulos de anticuerpos neutralizantes aumentan al mismo tiempo o más lentamente que los anticuerpos HI y ELISA, pero más rápido que los anticuerpos CF.
<b>Prueba de inmunocaptura enzimática de la inmunoglobulina M (MAC-ELISA)</b>	Es una prueba rápida y sencilla, una invaluable herramienta para la vigilancia del dengue, en áreas donde no es endémico, una apropiada serovigilancia MAC-ELISA durante una epidemia determina su rápida diseminación, es de especial ayuda en pacientes hospitalizados quienes son generalmente admitidos en fase tardía de la enfermedad.



<b>Inmunoglobulina indirecta G (ELISA)</b>	Es comparable con la prueba IH es utilizada para diferenciar una infección primaria o secundaria por dengue, no es específica y tiene reacciones cruzadas con otros flavivirus.
<b>TR-PCR (Reacción de cadena de polimerasa-transcriptasa reversa)</b>	Es un método rápido, sensible, simple y reproducible con los adecuados controles. Usado para detectar el RNA viral en muestras clínicas de humanos, tiene una sensibilidad similar al aislamiento viral con la ventaja de que problemas en el manipuleo, almacenaje y la presencia de anticuerpos no influye en su resultado.
<b>Sonda de Hibridación</b>	Detecta ácidos nucleicos virales. Su ventaja es que puede ser usado en tejidos de autopsia y muestras clínicas humanas. Es menos sensible que la TR-PCR, pero más que la PCR.
<b>Inmunohistoquímica</b>	Con este nuevo método es posible detectar el antígeno viral en una gran variedad de tejidos. Estos nuevos métodos involucran la conjugación enzimática con fosfatasa y peroxidasa en conjunto con anticuerpos mono y policlonales.

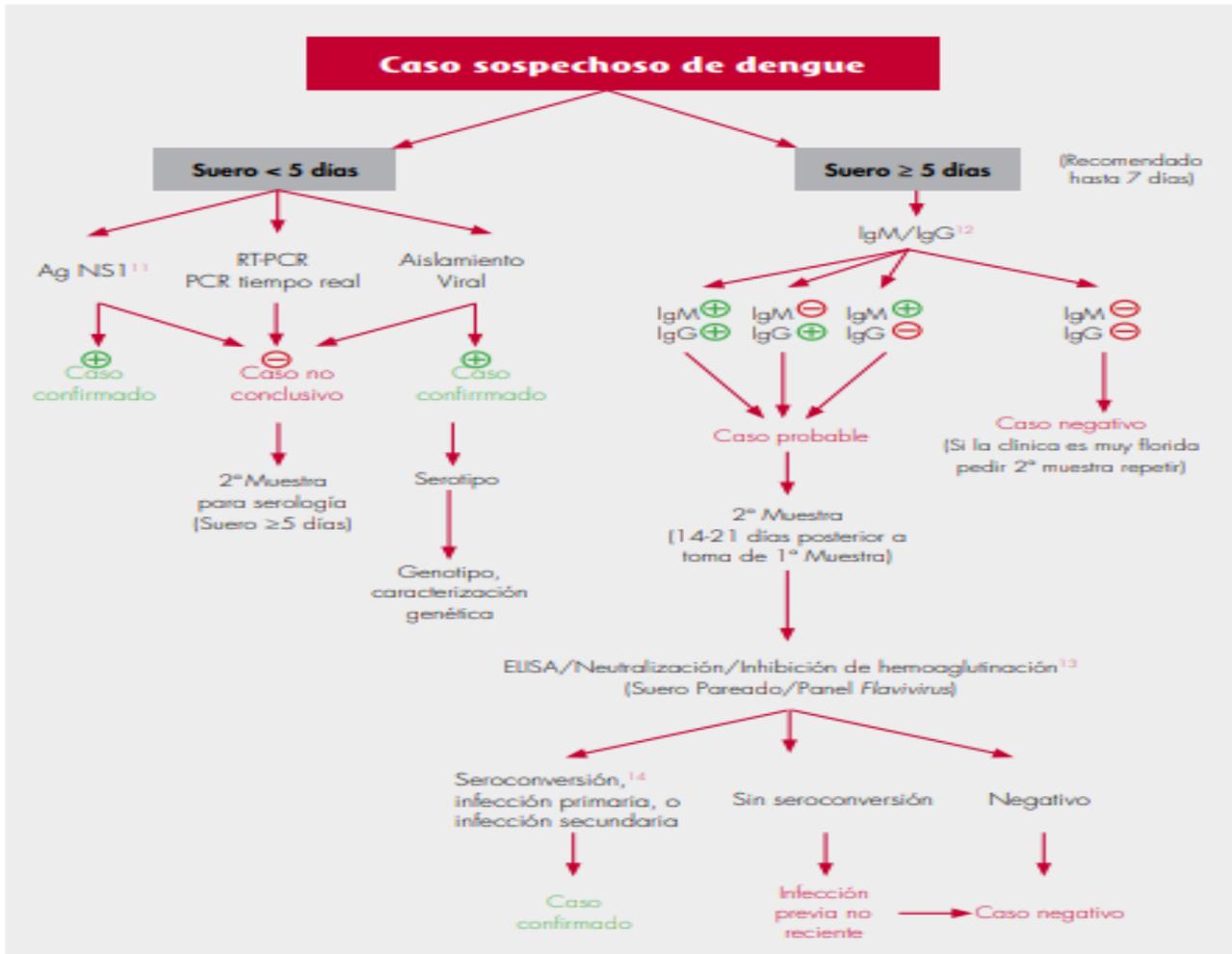
### Otros exámenes de laboratorio

Estos se realizarán según la necesidad y cuadro clínico del paciente. El hemograma completo con recuento leucocitario y plaquetario es de rutina. En caso de sospecha de encefalitis se estudiará un líquido cefalorraquídeo siempre y cuando no exista riesgo de sangrado. En casos de shock se deben determinar los gases arteriales, electrolitos, pruebas de función hepática y renal. (96)



### ALGORITMO DE DIAGNOSTICO POR LA INFECCION

Figura 4. Algoritmo propuesto para el diagnóstico del dengue por laboratorio



Para la vigilancia integrada no se requiere la confirmación por laboratorio de todos los casos probables. Sin embargo, sí es necesario que se estudie un porcentaje de ellos para evaluar con la mayor precisión y celeridad la situación epidemiológica en un momento y lugar determinados para poder tomar decisiones inmediatas. (97)



<b>Signos y síntomas</b>	<b>Dengue</b>	<b>Chikungunya</b>	<b>Zika</b>
<b>Motivo de consulta más frecuente</b>	Fiebre, mialgias	Dolor articular, fiebre	Exantema o prurito
<b>Fiebre</b>	Moderada Muy frecuente Duración de 4 a 9 días	Intensa Muy frecuente Duración de 3 a 5 días	Leve Muy poco frecuente Duración de 1 a 3 días
<b>Exantema</b>	Aparece del 5to al 7mo día No característico	Aparece del 2do al 3er día No característico	Típicamente desde el día 1, Maculo poular, Céfalocaudal
<b>Prurito</b>	Leve a intenso	Leve a moderado	Moderado a intenso
<b>Conjuntivitis</b>	Poco frecuente	Muy poco frecuente	Muy frecuente
<b>Manifestaciones neurológicas</b>	Poco frecuente	Poco frecuente (puede ser frecuente y grave en neonatos)	Posible y grave
<b>Cefalea</b>	Intensa y frecuente	Leve a moderada	Leve a moderada
<b>Dolor retro ocular</b>	Intenso y frecuente	Poco frecuente	Poco frecuente
<b>Poliartralgia</b>	Ausente	Muy frecuente	Frecuente
<b>Poliartritis</b>	Ausente	Frecuente	Frecuente
<b>Edema de manos y pies</b>	Poco frecuente	Frecuente	Poco frecuente
<b>Evolución a cronicidad</b>	No	Muy frecuente	No descrito
<b>Mialgias</b>	Muy frecuente e intensa	Frecuente	Poco frecuente



		Moderada a intensa	
Hepatomegalia	Signo de alarma	Muy poco frecuente	Muy poco frecuente
Vómitos frecuentes	Signo de alarma	Muy poco frecuente	Muy poco frecuente
Diarrea	Frecuente	Muy poco frecuente	muy poco frecuente
Dolor abdominal intenso	Signo de alarma	No se presenta	No se presenta
Sangrado de la piel	Frecuente	Muy poco frecuente	Muy poco frecuente
Sangrado de mucosas	Signo de alarma	Muy poco frecuente (cuando se presenta es grave)	Muy poco frecuente
Choque	Es la forma grave más frecuente	Poco frecuente	No se conoce
Leucopenia	Moderada a intensa	Leve a moderada	Leve a moderada
Proteína C Reactiva	Normal	Elevada	Elevada
Hematocrito elevado	Es un signo de alarma	Poco frecuente	Poco frecuente
Recuento plaquetario	Normal a muy bajo	Normal a bajo	Normal a bajo
Consideraciones particulares	Riesgo de muerte	Puede evolucionar a artropatía crónica	Riesgo de infección congénita, Síndrome de Guillain Barre. (103)

Algoritmo diferencial: dengue, Chikungunya y zika



## **7. DISEÑO METODOLOGICO**

### **Población y tipo de estudio.**

Realizaremos un estudio de casos y controles utilizando las muestras y la información clínica de un gran estudio de cohorte del proyecto de investigación sobre infecciones febriles agudas (AFI) de la UNAN-LEÓN donde se determina la prevalencia de fiebre, causada por virus del dengue, se seleccionaron en esta cohorte a todo paciente igual o mayor a un año de edad con historia de fiebre igual o mayor a 38°C las muestras que se utilizaran están almacenadas en biobanco de UNAN-LEON donde se seleccionaran 88 muestras divididas equitativamente en 43 positivas y 45 negativas que serán los casos y controles que se seleccionaran según los criterios de inclusión y exclusión para dengue según el análisis por RT-PCR. Los casos son pacientes con fiebre mayor o igual a 38°C con una prueba RT-PCR positiva para dengue, y los controles son pacientes con fiebre mayor o menor a 38°C con una prueba de RT-PCR negativa para dengue.

### **Área y periodo de estudio**

Las muestras seleccionadas serán las almacenadas por el proyecto AFI en su estudio donde se determina la prevalencia de fiebre causada por el virus del dengue durante los meses septiembre-octubre del año 2022.

### **Fuente de información.**

La información médica para el estudio será una fuente de información secundaria de la investigación del estudio del proyecto AFI sobre la fiebre la cual fue recopilada por un personal clínico capacitado a través de un cuestionario y un examen físico, además de su chequeo médico rutinario. Se recolectó en primera instancia muestra de sangre, saliva y orina, además de hisopados nasales para ayudarles a determinar de una mejor manera las posibles causas de las infecciones y/o enfermedades que provocan fiebre. También le pidió que regresaran para seguimiento y toma de muestra sanguínea de 2 a 4 semanas posteriores al primer contacto.



## **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se usará el Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 22.0 se aplicará pruebas de Kolmogorov-Smirnov para determinar la distribución de los datos. Los datos serán presentados utilizando estadísticos descriptivos, medias  $\pm$  de las desviaciones estándar (DE) o rangos intercuartílicos e intervalos de confianza según corresponda. Se usará una prueba de chi-cuadrado para comparar proporciones. Los datos continuos con dos categorías serán comparados mediante la prueba t de muestra independiente. Para las observaciones repetidas se probarán utilizando la prueba t pareada.

## **Criterios de inclusión**

### **Criterios de inclusión del proyecto (AFI)**

1. ¿Paciente de nuevo ingreso en la UAF?
2. ¿Usted ha estado ingresado menos de 24 horas en la UAF?
3. ¿Ingesta de antipirético antes de acudir a la UAF?
4. ¿Usted ha presentado fiebre  $\geq$  a 38° documentada o activa al ingresar a la UAF? (Rango 1-14 días)

### **Criterios de inclusión del estudio**

1. muestras positivas con dengue
2. muestras que tuvieran el serotipo 4
3. muestras que tuvieran su ficha epidemiológica correctamente

### **Criterios de exclusión**

1. ¿Usted presenta fiebre  $\geq$  a 38°? SI, continúe No, pare.
2. ¿El paciente entrevistado es menor de 1 año?
3. ¿Usted realizará algún viaje fuera de León, en los próximos 30 días?



4. ¿Le han realizado algún tipo de cirugía en los últimos 7 días?
5. ¿Usted, presenta algún tipo de incapacidad física, mental o emocional para dar su consentimiento?

### Prospectos de las pruebas

#### -Proteínas Totales (prueba colorimétrica fotométrica por proteínas totales)

Preparación de los reactivos:

RGT Y STD están listos para su uso y son estables aun después de abiertos hasta su fecha de caducidad cuando son almacenados de 2... 25 °C.

Muestra:

Suero

Esquema de pipeteo

Pipetear en las cubetas	Blanco de reactivo	Muestra / STD
Muestra / STD	-	20µl
RGT	1000 µl	1000 µl
Mezclar, incubar por 10 minutos, de 20...25 <sup>0</sup> C. Medir la absorbancia de la muestra y del STD frente al blanco de reactivo dentro de 30 minutos. (ΔA)		

#### Valores de referencia

Bebes con nacimiento normal	4.6 – 7.0 g/dl o 46 – 70 g/l
Niños de 3 años y adultos	6.6 – 8.7 g/dl o 66 – 87 g/l

#### -Calcio (prueba fotométrica colorimétrica para calcio método CPC)

Preparación de los reactivos

Añada RGT a un volumen igual de BUF según se requiera, mezcle y de reposar por 30 minutos a temperatura ambiente antes de su uso.

Los reactivos y el patrón son estables aun después de abiertos hasta su fecha de caducidad cuando son almacenados de 2... 25 °C.

Muestra:



Suero

Esquema de pipeteo

Pipetear en las cubetas	Blanco de reactivo	Muestra / STD
Muestra / STD	-	20 $\mu$ l
Reactivo de trabajo	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
Mezclar y medir la absorbancia de la muestra. ( $\Delta A_{\text{muestra}}$ ) y del patrón ( $\Delta A_{\text{standar}}$ ) contra el blanco reactivo en un lapso de 5 a 30 minutos		

**Valores de referencia:**

Suero/plasma: 8.1 – 10.4 mg/dl o 2.02 – 2.60 mmol/l

**-Albúmina (prueba fotométrica colorimétrica para albúmina método BCG)**

**Preparación de los reactivos**

RGT y STD están listos para usar

Estabilidad de los reactivos

RGT y SDT son estables hasta su fecha de caducidad cuando son almacenados de 2... 25 °C. Después de abiertos debe evitarse la contaminación

Muestra:

Suero o plasma con EDTA o heparina

Esquema de pipeteo

Pipetear en las cubetas	Blanco de reactivo	Muestra / STD
Muestra / STD	---	10 $\mu$ l
RGT	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l
Mezclar e incubar por 5 minutos de 20 a 25 <sup>0</sup> C, medir la absorbancia de la muestra y del estándar frente al blanco de reactivo antes de 30 minutos ( $\Delta A$ )		

**Valores de referencia**

3.8 – 5.1 g/dl o 38 – 51 g/l



### OPERALIZACION DE VARIABLES

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.		Años	Numérico
Sexo	condición física que distingue hombres y mujeres		Fenotipo	Masculino Femenino
Procedencia	Lugar de origen	Espacial	Área	Urbana Rural
Ocupación	Actividad o trabajo que realiza la persona encuestada.	Trabajo	Tipo	Estudiante Ama de casa Pensionado Oficina, maestro, trabajador de la salud. Comerciante. Otros.
Escolaridad	Nivel de educación más alto que	Educación		Preescolar Primaria Secundaria



Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	una persona ha terminado			Universitario Anafabeltizado
Síntomas clínicos	Aumento temporal de la temperatura del cuerpo por encima de 38°C	Fiebre	Presencia	Si No No sabe
	Sensación de frío intensa y repentina acompañada de ligero temblor del cuerpo	Escalofrío	Presencia	Si No No sabe
	Es la pérdida del 5% de su peso corporal normal durante 6 – 12 meses	Pérdida de peso	Presencia	Si No No sabe
	Flujo excesivo o drenaje de líquido claro o mucoso de la nariz	Rinorrea	Presencia	Si No No sabe
	Cuando no hay expectoración.	Tos seca	Presencia	Si No No sabe



Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	Tos acompañada de mocos o flemas	Tos productiva	Presencia	Si No No sabe
	Expectoración de moco sanguinolento de los pulmones	Espujo sanguinolento	Presencia	Si No No sabe
	Irritación de la garganta que a menudo empeora al tragar	Dolor de garganta	Presencia	Si No No sabe
	Dificultad respiratoria o falta de aire	Disnea	Presencia	Si No No sabe
	Expulsión violenta por la boca de lo que está contenido en el estómago	Vómito	Presencia	Si No No sabe
	Tres o mas evacuaciones intestinales líquidas en 24 horas	Diarrea	Presencia	Si No No sabe



Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	Dolor continuo en el abdomen	Dolor abdominal	Presencia	Si No No sabe
	Sensación dolorosa al orinar	Dolor al orinar	Presencia	Si No No sabe
	Cantidad de orina menor a lo normal	Disminución de la orina	Presencia	Si No No sabe
	Dolor opresivo en perímetro del cráneo	Dolor de cabeza	Presencia	Si No No sabe
	Estado de somnolencia anormal	Letargia	Presencia	Si No No sabe
	Alteración repentina e incontrolada de la actividad eléctrica del cerebro	Convulsiones	Presencia	Si No No sabe
	Molestia en una articulación	Dolor articular	Presencia	Si No No sabe



Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	Molestia en un músculo	Dolor muscular	Presencia	Si No No sabe
	Aparición de una erupción cutánea	Rash	Presencia	Si No No sabe
	Alteración que se produce en el sistema inmunológico por extrema sensibilidad del organismo	Alergias	Presencia	Si No No sabe
	Inflamación o infección de la conjuntiva	Conjuntivitis	Presencia	Si No No sabe
	Dolor alrededor o detrás del ojo	Dolor retro orbital	Presencia	Si No No sabe
	Afección que puede aparecer en cualquier parte del oído ya sea	Dolor de oído	Presencia	Si No No sabe



Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	inflamación por infección			
	Cuando no es capaz de oír tan bien como una persona cuyo sentido del oído es normal	Sordera	Presencia	Si No No sabe
	Derrame de sangre proveniente de vasos sanguíneos ubicados en la nariz	Epistaxis	Presencia	Si No No sabe
	Trastorno en el que la persona pierde el gusto	Perdida del gusto	Presencia	Si No No sabe
	Incapacidad de detectar los olores	Pérdida del olfato	Presencia	Si No No sabe
Calcio iónico Teórico	Calcio libre no unido a proteínas	Concentración de calcio	$Ca^{++} = PI - (6 \times Ca) - 3$ $(PT+6) =$ mg/dl	Numérico en mg/dl



<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor</b>
Calcio sérico	Concentración del Ion calcio en suero	Concentración de calcio	Resultado de laboratorio	Numérico en mg/dl Los valores normales van de 8.5 a 10.5 mg/dL
Hipocalcemia Ca ionizado	Concentración del Ion calcio en suero	Concentración de calcio iónico en suero	Resultado de laboratorio	< 4.8 > 4.8 Valor de referencia 4.8 a 5.3 (mg/dl)
Albumina	Concentración de albumina en suero	Concentración sérica de albumina	Resultado de laboratorio	Numérico en g/dl Valor de referencia: 3.8 – 5.1 g/dl
Proteínas Totales	Concentración de proteínas totales en suero	Concentración sérica de proteínas	Resultado de laboratorio	Numérico en g/dl Valor de referencia: 6.6 – 8.7 g/dl



## 8. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio septiembre – octubre 2022, fueron enrolados en el proyecto AFI un total de 147 pacientes con fiebre aguda en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello, de estos estudiamos un total de 43 casos positivos para dengue confirmados por RT-PCR Trioplex y 45 controles que presentaban fiebre aguda por otras causas.

**Tabla N°1: Características socio-epidemiológicas de la población en estudio.**

		Casos		Controles	
		F	%	F	%
Sexo	Femenino	15	35	20	44
	Masculino	28	65	25	56
Procedencia	Urbano	38	88	43	92
	Rural	5	12	3	8
Escolaridad	Preescolar	0	0	4	9
	Primaria	32	74	19	42
	Secundaria	5	12	3	7
	Universitario	5	12	15	33
	Analfabeto	1	2	4	9
Oficio/Profesión	Estudiante	27	63	23	51
	Ama de casa	3	7	6	13
	Pensionado	1	2	0	0
	Oficina/maestro/sector salud	2	5	5	11
	Comerciante	2	5	4	9
	Otros	8	19	7	16
		Promedio		DE	Promedio
	Edad	21	12.8	23	17.8

Dentro de las características socio epidemiológicas de la población en estudio se encontró lo siguiente: En cuanto al sexo, hubo un predominio del sexo masculino 28 (65%) en los casos y 25 (56%) en controles, distribuidos en un porcentaje similar en ambos grupos. En cuanto a la procedencia, la urbana obtuvo el predominio con 38 (88%) para los casos y 43 (92%) para los controles. La mayoría de los casos tenían un nivel de educación primaria con 32 (74%) y en los controles con 19 (42%) y seguido de Universitario con 15 (33%).



La profesión predominante en los casos fue estudiante con 27 (63%) y también en los controles con 23 (51%). El promedio de la edad para los casos fue de 21 con una desviación estándar de 12.9 en cambio los controles tuvieron un promedio de 23 y una desviación estándar de 17.8.

**Tabla N°2: Asociación de los síntomas clínicos en los casos y controles.**

Hallazgos Clínicos		Casos		Controles		P
		N	%	N	%	
<b>Escalofríos</b>	Si	<b>37</b>	86	33	73	0.139
	No	6	14	8	27	
<b>Rinorrea</b>	Si	6	14	34	76	< <b>0.001</b>
	No	37	86	11	24	
<b>Tos seca</b>	Si	3	7	20	44	< <b>0.001</b>
	No	40	93	25	56	
<b>Dolor de cabeza</b>	Si	<b>39</b>	91	32	71	<b>0.020</b>
	No	4	9	13	29	
<b>Dolor articular</b>	Si	<b>29</b>	67	21	47	<b>0.049</b>
	No	14	33	24	53	
<b>Dolor muscular</b>	Si	<b>27</b>	63	22	49	0.189
	No	16	37	23	51	
<b>Rash</b>	Si	<b>6</b>	14	0	0	<b>0.009</b>
	No	37	86	45	100	
<b>Dolor retroorbital</b>	Si	<b>21</b>	49	13	29	<b>0.045</b>
	No	22	51	32	71	
<b>Epistaxis</b>	Si	<b>6</b>	14	0	0	<b>0.009</b>
	No	37	86	45	100	
<b>Tos productiva</b>	Si	2	5	26	58	< <b>0.001</b>
	No	41	95	19	42	
<b>Vomito</b>	Si	7	16	11	24	0.343
	No	36	84	34	76	
<b>Diarrea</b>	Si	10	23	11	24	0.896
	No	33	77	34	76	

En relación con los hallazgos clínico de los casos y controles los síntomas más frecuentes en los casos son: escalofríos, dolor de cabeza, dolor articular, dolor muscular, el rash y epistaxis fueron síntomas específicos. Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la presencia de dolor de cabeza (p 0.020), dolor articular (p 0.049), dolor retroorbital (0.045), rash (p 0.009) y epistaxis con (p 0.009), en este síntoma sería bueno clasificar la etapa de la enfermedad si es con o sin signos de alarma para estudios posteriores.

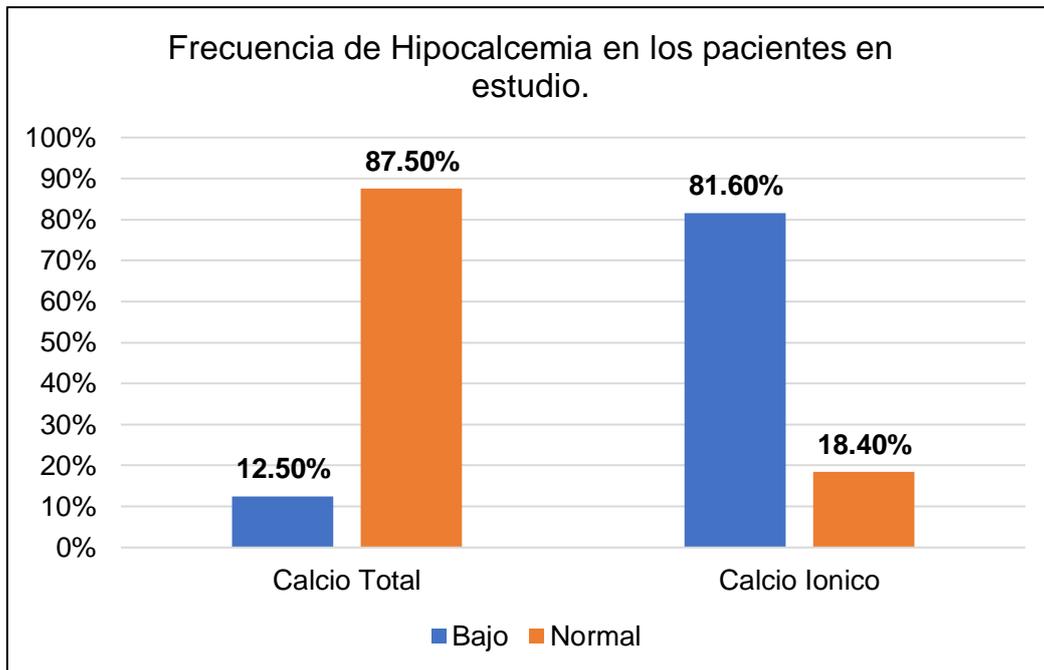
**Tabla N°3: Asociación entre la Concentración de Parámetros Bioquímicos en los casos y controles.**

Parámetros Bioquímicos	Casos		Controles		P
	Promedio	DE	Promedio	DE	
<b>Ca. Total</b>	9.8	0.934	10.2	1.138	0.057
<b>Ca. Iónico</b>	4.1	0.603	4.0	0.544	0.371
<b>Proteínas Totales</b>	7.8	1.613	8.7	1.553	<b>0.011</b>
<b>Albumina</b>	4.7	0.583	4.5	0.577	0.082

Al comparar las medias de las concentraciones de los parámetros bioquímicos se encontró diferencias significativas en los niveles de proteínas totales entre los casos y controles ( $p$  0.011), mostrando disminución de los promedios de Proteínas en los casos (7.8 g/dl) en comparación con los controles (8.7 g/dl). La evaluación de los otros parámetros no mostro diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles.



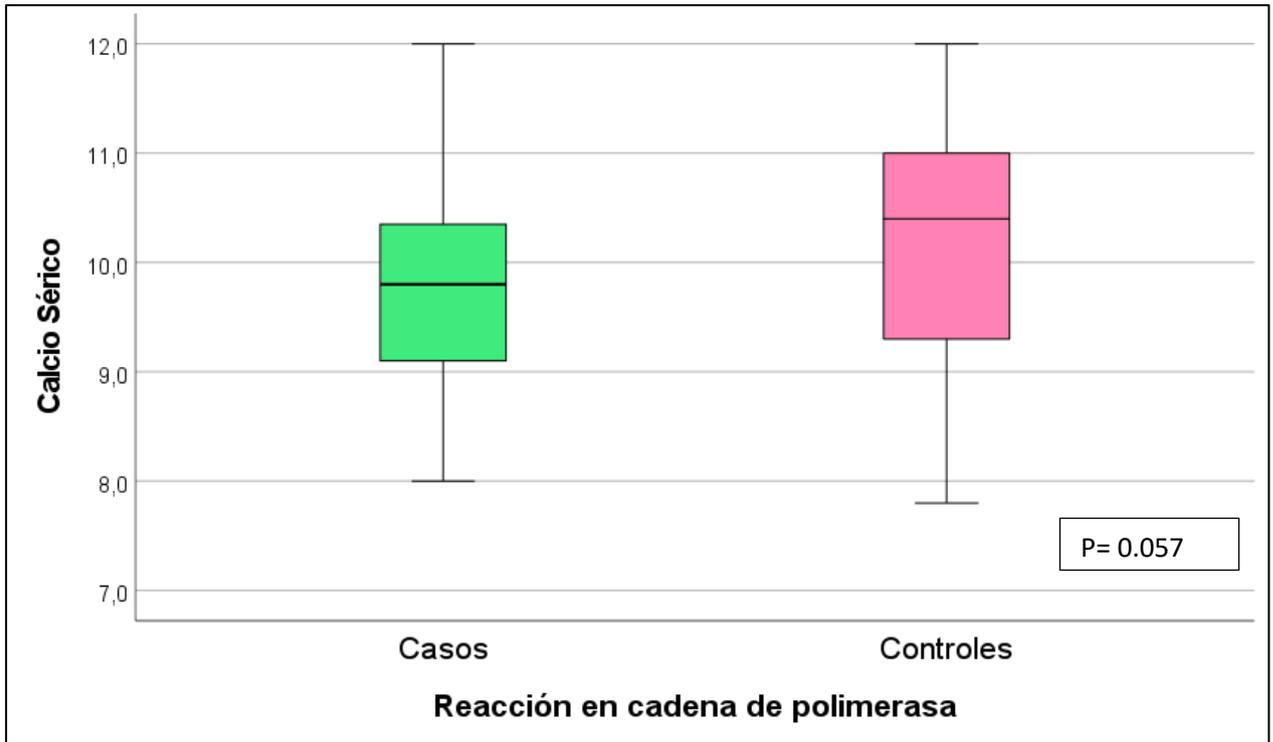
**Gráfico N° 1. Frecuencia de Hipocalcemia en los pacientes con enfermedad febril.**



Los resultados de Calcio Total y Calcio Iónico se evaluaron en grupos con la finalidad de ver la frecuencia de hipocalcemia en los pacientes estudiados, cuando se analizó el Calcio Total se pudo ver que la hipocalcemia se presentó únicamente en el 12.5% de la población, sin embargo cuando se analizó el Calcio Iónico se pudo observar que el 81.6% de los pacientes presentaban niveles bajos de Calcio Iónico.



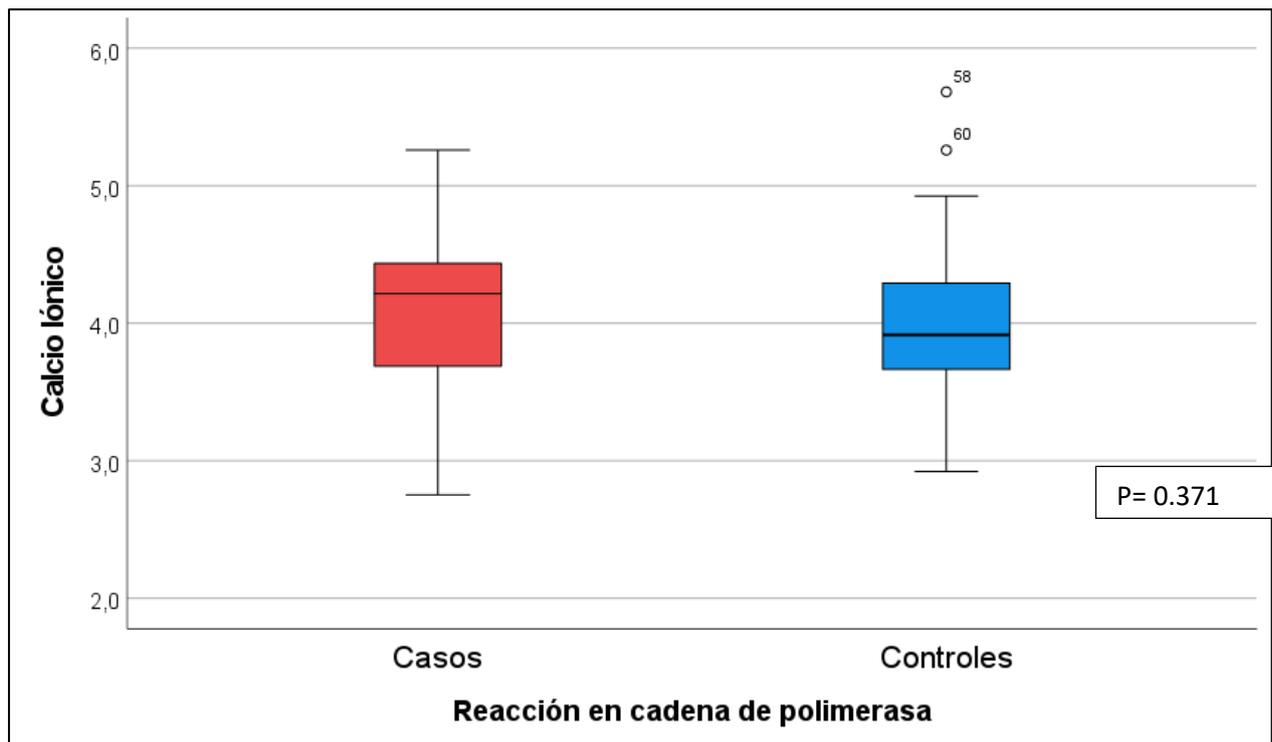
**Gráfico N°2. Niveles de Calcio Total entre Casos y Controles.**



Se analizaron los niveles séricos de calcio total entre los dos grupos de comparación, la media de calcio total en los casos fue de 9.8 mg/dl, mientras que en el grupo control fue de 10.2 mg/dl, las medias de calcio total se encuentran dentro de los valores de referencia, no se encontró diferencia entre los niveles de calcio total entre casos y controles (P=0.057).



**Gráfico N°3. Niveles de Calcio Iónico según Casos y Controles.**



De igual manera se analizaron los niveles de Calcio Iónico entre los casos y controles, el cálculo del Calcio Iónico se realizó en base a la corrección con las Proteínas Totales, no hubo diferencia entre las medias de Calcio Iónico entre casos y controles (P=0.371).



**Tabla N°4a. Asociación entre la sintomatología clínica y los niveles de Calcio Total.**

Síntomas		Calcio Total		P
		Bajo	Normal	
Rinorrea	Si	5	25	0.458
	No	3	31	
Tos Seca	Si	2	12	0.563
	No	6	44	
Tos Productiva	Si	3	17	0.697
	No	5	39	
Cefalea	Si	8	44	0.563
	No	0	12	
Artralgia	Si	4	33	0.712
	No	4	23	
Dolor Retro-orbital	Si	4	22	0.705
	No	4	34	
Rash	Si	1	4	0.497
	No	7	52	
Epistaxis	Si	0	5	1.00
	No	8	51	



**Tabla N°4b. Asociación entre la sintomatología clínica y los niveles de Calcio Iónico.**

Síntomas		Calcio Iónico		P
		Bajo	Normal	
Rinorrea	Si	35	4	0.099
	No	36	12	
Tos Seca	Si	18	5	0.754
	No	53	11	
Tos Productiva	Si	25	2	0.132
	No	46	14	
Cefalea	Si	58	13	1.00
	No	13	3	
Artralgia	Si	39	11	0.406
	No	32	5	
Dolor Retro-orbital	Si	25	9	0.158
	No	46	7	
Rash	Si	3	3	0.073
	No	68	13	
Epistaxis	Si	6	0	0.587
	No	65	16	

Se analizaron la sintomatología clínica que pudiera estar asociada a la disminución de los niveles séricos de Calcio Total en los pacientes del estudio. Se analizaron síntomas como Rinorrea, Tos seca, Tos productiva, epistaxis, cefalea, artralgia entre otros, las pruebas de Chi cuadrado no mostraron asociación entre los síntomas presentados y la disminución de los niveles de Calcio Total, mostrando individualidad entre cada variable, el hecho de tener cefaleas o artralgias no estaría influenciando la disminución de las concentraciones de calcio. En los análisis no se presenta a la fiebre debido a que



la fiebre se tomó como uno de los criterios de selección del proyecto AFI, si bien es cierto la fiebre como indicador del proceso infeccioso agudo que pudiese estar relacionado con la disminución del calcio, no pudo ser evaluado debido a que el 100% de los pacientes presentaban fiebre. De igual manera los análisis de asociación para el calcio iónico no mostraron asociación estadísticamente significativa. Ver Tabla 4a y 4b.



## 9. DISCUSIÓN

Se diseñó un estudio de casos y controles usando la base de muestras de pacientes del proyecto Acute Febrile Infections (AFI). En el cual se utilizaron pacientes con diagnóstico de dengue serotipo 4 y pacientes con fiebre de otra causa etiológica, se analizaron la frecuencia de hipocalcemia asociada a los casos de dengue.

El presente estudio de casos y controles se diseñó en base a tener una estructura homogénea en la población en estudio, donde la cantidad de casos en relación con los controles fueran similar, esto debido a que las posibles asociaciones no fueran influenciadas por las variaciones en la demografía de la población. Una edad media de 21 años en casos y de 23 en controles, de procedencia urbana y del sexo masculino.

Se presentaron síntomas clínicos que si se asociaron a ser más frecuentes en los pacientes casos que en los controles, dentro de ellos se muestran: rinorrea, tos seca, cefalea, artralgias y rash. Si bien es cierto algunos de estos síntomas no son muy típicos de los casos de dengue, sin embargo la fiebre como criterio de base y el rash son de los principales síntomas encontrados en los casos de dengue, sumado a esto la cefalea y la artralgia, en conjunto con los hallazgos de laboratorio más clásicos del dengue, como lo es la disminución de las plaquetas, ya sea dengue sin signos de alarma o en los casos de dengue hemorrágico.

No hubo diferencia entre las medias de los niveles de calcio total entre casos y controles, tampoco se evidencio una alta frecuencia de hipocalcemia tomando en cuenta el calcio total. Sin embargo, al analizar los niveles de calcio iónico se puede observar una media para casos y controles similares, alrededor de 4.1 mg/dl, cifras que se consideran por debajo del límite de referencia. El hecho de notar una diferencia al evaluar calcio total y calcio iónico puede atribuirse a la concentración de proteínas presentes en la muestra, debido al estado inflamatorio que cursan los pacientes.

La frecuencia de hipocalcemia en base a los niveles de calcio iónico fue de 81.6%, estos datos son comparables a lo reportado por Bunnag T, en 2011, donde se obtuvo hipocalcemia en 80% de los casos que presentaban dengue, sin embargo, la hipocalcemia en estos pacientes era severa, ya que este grupo



de pacientes falleció a causa de la gravedad de la enfermedad, de igual manera en el grupo de pacientes que se recuperó, se mostraron altas frecuencias de hipocalcemia (83.3%) (7)

De la misma manera cuando comparamos los resultados obtenidos con lo reportado en Sri Lanka en 2019, se ven resultados similares, no se mostraron diferencias en los niveles de calcio entre los positivos y los negativos, además que son comparables los valores obtenidos de calcio, en ese estudio fueron entre 9.1 y 9.6 mg/dl, los cambios en los niveles pueden ser atribuibles a la variación debido a los días de infección, a mas días de haber empezado el proceso infeccioso hay una mejoría clínica y por ende no se aprecian variaciones importantes en los niveles de calcio. (8)

Evaluando los datos reportados en 2020, en la ciudad de Bangkok por Kesavan S, se puede observar que los niveles de calcio sérico no muestra diferencia entre los casos positivos de dengue sin signos de alarma y los grupos negativos, la media de calcio en este estudio fue de 9.27 mg/dl, estos datos son similares a los obtenidos en el presente estudio donde no se encontró diferencia en los niveles de calcio total en casos y controles, sin embargo un dato contrario a lo encontrado es la diferencia en los niveles de calcio del grupo de dengue sin signos de alarma y el grupo de dengue grave reportados en Sri Lanka, donde si se evidencio una diferencia estadística, llegando a tener medias de calcio de 7.6 mg/dl. Es notable la diferencia cuando se comparan dos grupos de casos de dengue, debido a que la gravedad de la enfermedad está relacionada con un descenso significativo de los niveles de calcio, ya sea por la fuga capilar que hay a nivel de los vasos sanguíneos, o a causa de la utilización del calcio a nivel intracelular como señalizador de los procesos de comunicación. (9)

En el mismo sentido se evalúan los datos reportado por Gulshan K en 2022, donde se evidencia los cambios en los niveles de calcio cuando se compara la gravedad de las infecciones por dengue, en este estudio se reportan niveles de calcio menores a 8 mg/dl cuando se presentaban casos de shock por dengue. Ahora bien la gravedad de la enfermedad no es serotipo específica, depende de muchos factores propios del virus así como también de factores del huésped, y



también de un proceso mediado por anticuerpos que facilita la entrada del virus a la célula, generando un proceso infeccioso más grave.

En relación a la asociación entre la sintomatología presente en los pacientes en estudio y la disminución de los niveles de calcio, no se pudo encontrar asociación, esto debido a que no los síntomas son independientes de los cambios bioquímicos que pueda presentar cada paciente.

Dentro de las limitaciones presentes en el estudio, una de las principales es la cantidad de casos positivos que se presentaron en la etapa de recolección de datos, a esto se le puede sumar que se presentó un periodo donde solo circulo el serotipo 4 de dengue, de esta manera la no circulación de los otros serotipos puede haber influenciado la diferencia en la gravedad de los casos de dengue, ya que en los casos presentes no se reportaron casos de dengue con signos de alarma, ni casos de shock por dengue, esto afectaría mucho la disminución marcada de calcio que se podría haber presentado.



## 10. CONCLUSIONES.

- ❖ Las características socio-epidemiológicas presentes entre casos y controles fueron: pacientes del sexo masculino, de la zona urbana de la ciudad, con un nivel académico promedio de estudios primarios, eran estudiantes y un promedio de edad entre los 21 a 23 años respectivamente.
- ❖ Los síntomas clínicos asociados a los casos de dengue fueron: Rinorrea, tos seca, tos productiva, cefaleas, artralgias, dolor retroorbital, rash y epistaxis.
- ❖ La media de los niveles de calcio total en los casos fue de 9.8 mg/dl y en los controles fue de 10.2 mg/dl, no se encontró diferencia entre casos y controles. La media de los niveles de calcio iónico fue de 4.1 para el grupo de casos y de 4.0 para controles.
- ❖ La frecuencia de hipocalcemia fue de 81.6% en base a la evaluación del calcio iónico
- ❖ No se encontró asociación estadística entre los síntomas clínicos y los niveles bajos de calcio total y de calcio iónico.



## 11. RECOMENDACIONES.

A futuros investigadores.

- ❖ Realizar estudios similares donde puedan aumentar la cantidad de pacientes positivos.
- ❖ Realizar estudios prospectivos donde se evalúan mayor tiempo la circulación de casos de dengue con la finalidad de evaluar los distintos serotipos de dengue.
- ❖ Realizar estudios donde evalúen otros marcadores bioquímicos de severidad de los casos de dengue.
- ❖ Realizar campañas de concientización a la población acerca de la importancia del dengue y poder realizar estudios de tipo KAP para evaluar la perspectiva de las personas hacia la enfermedad.



## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* febrero de 2010;85(2):328-45.
2. Teo D, Ng LC, Lam S. Is dengue a threat to the blood supply? *Transfus Med Oxf Engl.* abril de 2009;19(2):66-77.
3. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* julio de 1998;11(3):480-96.
4. Dengue y dengue grave [Internet]. [citado 4 de junio de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
5. Benjamin DOC. COMPORTAMIENTO CLÍNICO Y EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES CON DIAGNOSTICO DE DENGUE HEMORRÁGICO INGRESADOS EN EL HOSPITAL MATERNO INFANTIL DR. FERNANDO VÉLEZ PAIZ EN EL PERIODO COMPRENDIDO ENERO - DICIEMBRE 2009.
6. Zapata IC, Zelaya Aroztegui MG. Determinación de los niveles de calcio sérico en pacientes con Dengue y su correlación con la gravedad de la enfermedad en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello (HEODRA) en el periodo 2022 [Internet] [Thesis]. 2023 [citado 4 de junio de 2024]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/9820>
7. Bunnag T, Kalayanarooj S. Dengue shock syndrome at the emergency room of Queen Sirikit National Institute of Child Health, Bangkok, Thailand. *J Med Assoc Thail Chotmaihet Thangphaet.* agosto de 2011;94 Suppl 3:S57-63.
8. Kularatnam GAM, Jasinge E, Gunasena S, Samaranayake D, Senanayake MP, Wickramasinghe VP. Evaluation of biochemical and haematological changes in dengue fever and dengue hemorrhagic fever in Sri Lankan children: a prospective follow up study. *BMC Pediatr.* 1 de abril de 2019;19(1):87.
9. Kesavan S. An Association between Serum Calcium Level and Severity of Dengue Virus Infection in Government Mohan Kumaramangalam Medical College Hospital, Salem [Internet] [masters]. Government Mohan Kumaramangalam Medical College, Salem; 2020 [citado 22 de junio de 2023]. Disponible en: <http://repository-tnmgrmu.ac.in/13337/>
10. Kumar G, Saini RP, Rani A. Study of Correlation of Serum Calcium Level with Disease Severity in Dengue Patients. *J Assoc Physicians India.* abril de 2022;70(4):11-2.
11. Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. 2019 [citado 22 de junio de 2023]. Cuadro Clínico del Dengue |CDC. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare-providers/clinical-presentation.html>



12. Sugieren investigar la hipocalcemia en pacientes con dengue [Internet]. [citado 22 de junio de 2023]. Disponible en: <http://buenvivirdigital.com/buenvivir/zona-prevencion/sugieren-investigar-la-hipocalcemia-en-pacientes-con-dengue>
13. Kouri G, Valdéz M, Arguello L, Guzmán MG, Valdés L, Soler M, et al. SciELO - Brasil -. Rev Inst Med Trop São Paulo. octubre de 1991;33:365-71.
14. Stephenson JR. The problem with dengue. Trans R Soc Trop Med Hyg. septiembre de 2005;99(9):643-6.
15. Berridge MJ. Capacitative calcium entry. Biochem J. 15 de noviembre de 1995;312 ( Pt 1)(Pt 1):1-11.
16. Normativa - 073 «Manejo Clínico del Dengue en Adulto».pdf.
17. Dengue y dengue grave [Internet]. [citado 2 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
18. Dengue - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. [citado 29 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/dengue>
19. Temas - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. [citado 2 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas#gsc.tab=0>
20. Yábar V C. Rol de las proteínas no estructurales en los eventos de replicación del ARN del virus dengue: propuesta de un modelo de replicación del ARN. Rev Peru Med Exp Salud Publica. marzo de 2003;20(1):51-7.
21. Bautista C. Participación de las proteínas Calmodulina y Calreticulina durante la infección por Dengue, CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL. Mexico DF, Enero 2017.
22. Raviprakash K, Sinha M, Hayes CG, Porter KR. Conversion of dengue virus replicative form RNA (RF) to replicative intermediate (RI) by nonstructural proteins NS-5 and NS-3. Am J Trop Med Hyg. enero de 1998;58(1):90-5.
23. Bartholomeusz AI, Wright PJ. Synthesis of dengue virus RNA in vitro: initiation and the involvement of proteins NS3 and NS5. Arch Virol. 1993;128(1-2):111-21.
24. You S, Padmanabhan R. A novel in vitro replication system for Dengue virus. Initiation of RNA synthesis at the 3'-end of exogenous viral RNA templates requires 5'- and 3'-terminal complementary sequence motifs of the viral RNA. J Biol Chem. 19 de noviembre de 1999;274(47):33714-22.



25. You S, Falgout B, Markoff L, Padmanabhan R. In vitro RNA synthesis from exogenous dengue viral RNA templates requires long range interactions between 5'- and 3'-terminal regions that influence RNA structure. *J Biol Chem.* 11 de mayo de 2001;276(19):15581-91.
26. Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin Microbiol Rev.* julio de 1998;11(3):480-96.
27. Hayes EB, Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Pediatr Infect Dis J.* abril de 1992;11(4):311-7.
28. Halstead SB. Dengue. *Curr Opin Infect Dis.* octubre de 2002;15(5):471-6.
29. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2019 [citado 29 de enero de 2024]. Cuadro Clínico del Dengue |CDC. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare-providers/clinical-presentation.html>
30. Organización Panamericana de la Salud. El Dengue en Centroamérica: Las epidemias de 2000 [Internet]. 2000 [citado 5 de febrero de 2024]. Disponible en: [https://www3.paho.org/spanish/sha/be\\_v21n4-dengue.htm](https://www3.paho.org/spanish/sha/be_v21n4-dengue.htm)
31. Dengue – Región de las Américas [Internet]. [citado 5 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencias/disease-outbreak-news/item/2023-DON475>
32. “Las acciones de control contra el dengue han fracasado” [Internet]. [citado 5 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://confidencial.digital/nacion/epidemia-de-dengue-revela-fracaso-del-ministerio-de-salud/>
33. Normativa - 072 “Guía para el Manejo Clínico del Dengue en Pediatría”.pdf.
34. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol.* diciembre de 2010;8(12 Suppl):S7-16.
35. Pang EL, Loh HS. Current perspectives on dengue episode in Malaysia. *Asian Pac J Trop Med.* abril de 2016;9(4):395-401.
36. Cruz-Oliveira C, Freire JM, Conceição TM, Higa LM, Castanho MARB, Da Poian AT. Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells. *FEMS Microbiol Rev.* marzo de 2015;39(2):155-70.
37. Singla M, Kar M, Sethi T, Kabra SK, Lodha R, Chandele A, et al. Immune Response to Dengue Virus Infection in Pediatric Patients in New Delhi, India-- Association of Viremia, Inflammatory Mediators and Monocytes with Disease Severity. *PLoS Negl Trop Dis.* marzo de 2016;10(3):e0004497.



38. Nguyen NM, Thi Hue Kien D, Tuan TV, Quyen NTH, Tran CNB, Vo Thi L, et al. Host and viral features of human dengue cases shape the population of infected and infectious *Aedes aegypti* mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 de mayo de 2013;110(22):9072-7.
39. Carrington LB, Simmons CP. Human to Mosquito Transmission of Dengue Viruses. *Front Immunol*. 17 de junio de 2014;5:290.
40. Cruz Hernández SI de la, Puerta-Guardo HN, Flores Aguilar H, González Mateos S, López Martínez I, Ortiz-Navarrete V, et al. Primary dengue virus infections induce differential cytokine production in Mexican patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. marzo de 2016;111(3):161-7.
41. Chen J, Ng MML, Chu JJH. Activation of TLR2 and TLR6 by Dengue NS1 Protein and Its Implications in the Immunopathogenesis of Dengue Virus Infection. *PLOS Pathog*. 30 de julio de 2015;11(7):e1005053.
42. Ab-Rahman HA, Rahim H, AbuBakar S, Wong PF. Macrophage Activation Syndrome-Associated Markers in Severe Dengue. *Int J Med Sci*. 17 de febrero de 2016;13(3):179-86.
43. Pérez AB, García G, Sierra B, Álvarez M, Vázquez S, Cabrera MV, et al. Producción ex vivo de TNF $\alpha$  y óxido nítrico por células sanguíneas en presencia de virus dengue. *Rev Cubana Med Trop*. abril de 2008;60(1):0-0.
44. Yam-Puc JC, García-Cordero J, Calderón-Amador J, Donis-Maturano L, Cedillo-Barrón L, Flores-Romo L. Germinal Center Reaction Following Cutaneous Dengue Virus Infection in Immune-Competent Mice. *Front Immunol*. 24 de abril de 2015;6:188.
45. Álvarez Vera M, Díaz Morejón D, Rodríguez Roche R, Morier Diaz L, Guzmán Tirado MG. Títulos de anticuerpos neutralizantes en sueros de individuos posconvalescientes con dengue. *Rev Cuba Med Trop*. 2014;132-42.
46. Halstead SB, O'Rourke EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J Exp Med*. 1 de julio de 1977;146(1):201-17.
47. Halstead SB. Pathogenesis of Dengue: Dawn of a New Era. *F1000Research*. 2015;4:F1000 Faculty Rev-1353.
48. Gollins SW, Porterfield JS. A new mechanism for the neutralization of enveloped viruses by antiviral antibody. *Nature*. 15 de mayo de 1986;321(6067):244-6.
49. Morens DM. Antibody-dependent enhancement of infection and the pathogenesis of viral disease. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. septiembre de 1994;19(3):500-12.



50. de Azeredo EL, Monteiro RQ, de-Oliveira Pinto LM. Thrombocytopenia in Dengue: Interrelationship between Virus and the Imbalance between Coagulation and Fibrinolysis and Inflammatory Mediators. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:313842.
51. Lin JC, Lin SC, Chen WY, Yen YT, Lai CW, Tao MH, et al. Dengue viral protease interaction with NF- $\kappa$ B inhibitor  $\alpha/\beta$  results in endothelial cell apoptosis and hemorrhage development. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 de agosto de 2014;193(3):1258-67.
52. Srikiatkachorn A, Kelley JF. Endothelial cells in dengue hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* septiembre de 2014;109:160-70.
53. Sung JM, Lee CK, Wu-Hsieh BA. Intrahepatic Infiltrating NK and CD8 T Cells Cause Liver Cell Death in Different Phases of Dengue Virus Infection. *PLOS ONE.* 26 de septiembre de 2012;7(9):e46292.
54. Basu A, Chaturvedi UC. Vascular endothelium: the battlefield of dengue viruses. *FEMS Immunol Med Microbiol.* agosto de 2008;53(3):287-99.
55. Guzman MG, Harris E. Dengue. *Lancet Lond Engl.* 31 de enero de 2015;385(9966):453-65.
56. Comber JD, Karabudak A, Huang X, Piazza PA, Marques ETA, Philip R. Dengue virus specific dual HLA binding T cell epitopes induce CD8+ T cell responses in seropositive individuals. *Hum Vaccines Immunother.* 2014;10(12):3531-43.
57. Flipse J, Smit JM. The Complexity of a Dengue Vaccine: A Review of the Human Antibody Response. *PLoS Negl Trop Dis.* 11 de junio de 2015;9(6):e0003749.
58. Hadinegoro SR, Arredondo-García JL, Capeding MR, Deseda C, Chotpitayasunondh T, Dietze R, et al. Efficacy and Long-Term Safety of a Dengue Vaccine in Regions of Endemic Disease. *N Engl J Med.* 24 de septiembre de 2015;373(13):1195-206.
59. Srikiatkachorn A, Mathew A, Rothman AL. Immune-mediated cytokine storm and its role in severe dengue. *Semin Immunopathol.* julio de 2017;39(5):563-74.
60. Yang W, Yan H, Ma Y, Yu T, Guo H, Kuang Y, et al. Lower activation-induced T-cell apoptosis is related to the pathological immune response in secondary infection with hetero-serotype dengue virus. *Immunobiology.* marzo de 2016;221(3):432-9.
61. Harenberg A, Montfort A de, Jantet-Blaudez F, Bonaparte M, Boudet F, Saville M, et al. Cytokine Profile of Children Hospitalized with Virologically-Confirmed Dengue during Two Phase III Vaccine Efficacy Trials. *PLoS Negl Trop Dis.* 26 de julio de 2016;10(7):e0004830.



62. Iani FC de M, Caldas S, Duarte MM, Cury ALF, Cecílio AB, Costa PAC, et al. Dengue Patients with Early Hemorrhagic Manifestations Lose Coordinate Expression of the Anti-Inflammatory Cytokine IL-10 with the Inflammatory Cytokines IL-6 and IL-8. *Am J Trop Med Hyg.* 6 de julio de 2016;95(1):193-200.
63. Casals J. Arboviruses. *Am J Clin Pathol.* 1 de junio de 1972;57(6):762-70.
64. Calisher CH, Karabatsos N, Dalrymple JM, Shope RE, Porterfield JS, Westaway EG, et al. Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J Gen Virol.* enero de 1989;70 ( Pt 1):37-43.
65. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. *Nat Rev Dis Primer.* 18 de agosto de 2016;2:16055.
66. Snow GE, Haaland B, Ooi EE, Gubler DJ. Review article: Research on dengue during World War II revisited. *Am J Trop Med Hyg.* diciembre de 2014;91(6):1203-17.
67. Priyamvada L, Cho A, Onlamoon N, Zheng NY, Huang M, Kovalenkov Y, et al. B Cell Responses during Secondary Dengue Virus Infection Are Dominated by Highly Cross-Reactive, Memory-Derived Plasmablasts. *J Virol.* 27 de mayo de 2016;90(12):5574-85.
68. Katzelnick LC, Montoya M, Gresh L, Balmaseda A, Harris E. Neutralizing antibody titers against dengue virus correlate with protection from symptomatic infection in a longitudinal cohort. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 19 de enero de 2016;113(3):728-33.
69. Koraka P, Suharti C, Setiati TE, Mairuhu AT, Van Gorp E, Hack CE, et al. Kinetics of dengue virus-specific serum immunoglobulin classes and subclasses correlate with clinical outcome of infection. *J Clin Microbiol.* diciembre de 2001;39(12):4332-8.
70. Rothman AL, Medin CL, Friberg H, Currier JR. Immunopathogenesis Versus Protection in Dengue Virus Infections. *Curr Trop Med Rep.* 1 de marzo de 2014;1(1):13-20.
71. Adams B, Holmes EC, Zhang C, Mammen MP, Nimmannitya S, Kalayanarooj S, et al. Cross-protective immunity can account for the alternating epidemic pattern of dengue virus serotypes circulating in Bangkok. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 19 de septiembre de 2006;103(38):14234-9.
72. Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypotheses and discussion. *Yale J Biol Med.* abril de 1970;42(5):350-62.
73. Alwis R de, Williams KL, Schmid MA, Lai CY, Patel B, Smith SA, et al. Dengue Viruses Are Enhanced by Distinct Populations of Serotype Cross-Reactive Antibodies in Human Immune Sera. *PLOS Pathog.* 2 de octubre de 2014;10(10):e1004386.



74. Endy TP, Nisalak A, Chunsuttitwat S, Vaughn DW, Green S, Ennis FA, et al. Relationship of preexisting dengue virus (DV) neutralizing antibody levels to viremia and severity of disease in a prospective cohort study of DV infection in Thailand. *J Infect Dis.* 15 de marzo de 2004;189(6):990-1000.
75. Endy TP. Human Immune Responses to Dengue Virus Infection: Lessons Learned from Prospective Cohort Studies. *Front Immunol [Internet].* 2014 [citado 7 de febrero de 2024];5. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2014.00183>
76. Anderson KB, Gibbons RV, Cummings DAT, Nisalak A, Green S, Libraty DH, et al. A shorter time interval between first and second dengue infections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand. *J Infect Dis.* 1 de febrero de 2014;209(3):360-8.
77. Moi ML, Takasaki T, Kurane I. Human antibody response to dengue virus: implications for dengue vaccine design. *Trop Med Health.* 14 de marzo de 2016;44(1):1.
78. Forshey BM, Reiner RC, Olkowski S, Morrison AC, Espinoza A, Long KC, et al. Incomplete Protection against Dengue Virus Type 2 Re-infection in Peru. *PLoS Negl Trop Dis.* 5 de febrero de 2016;10(2):e0004398.
79. Forshey BM, Stoddard ST, Morrison AC. Dengue Viruses and Lifelong Immunity: Reevaluating the Conventional Wisdom. *J Infect Dis.* 1 de octubre de 2016;214(7):979-81.
80. Theobald HE. Dietary calcium and health. *Nutr Bull.* septiembre de 2005;30(3):237-77.
81. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell.* 14 de diciembre de 2007;131(6):1047-58.
82. Cai X, Wang X, Patel S, Clapham DE. Insights into the early evolution of animal calcium signaling machinery: a unicellular point of view. *Cell Calcium.* marzo de 2015;57(3):166-73.
83. Berridge MJ. Calcium signal transduction and cellular control mechanisms. *Biochim Biophys Acta.* 6 de diciembre de 2004;1742(1-3):3-7.
84. Felsenfeld A, Rodriguez M, Levine B. New insights in regulation of calcium homeostasis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* julio de 2013;22(4):371-6.
85. Power ML, Heaney RP, Kalkwarf HJ, Pitkin RM, Repke JT, Tsang RC, et al. The role of calcium in health and disease. *Am J Obstet Gynecol.* diciembre de 1999;181(6):1560-9.
86. A C, O K, Mc W, V D, Mp C, P D. Dengue virus M protein contains a proapoptotic sequence referred to as ApoptoM. *J Gen Virol [Internet].* octubre de 2003 [citado 7 de febrero de 2024];84(Pt 10). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13679613/>



87. Zhou Y, Frey TK, Yang JJ. Viral calciomics: interplays between Ca<sup>2+</sup> and virus. *Cell Calcium*. julio de 2009;46(1):1-17.
88. Vervaeke P, Vermeire K, Liekens S. Endothelial dysfunction in dengue virus pathology. *Rev Med Virol*. enero de 2015;25(1):50-67.
89. Dietmann A, Helbok R, Lackner P, Fischer M, Reindl M, Lell B, et al. Endoglin in African Children with Plasmodium falciparum Malaria: A Novel Player in Severe Malaria Pathogenesis? *J Infect Dis*. 15 de diciembre de 2009;200(12):1842-8.
90. Conroy AL, Gélvez M, Hawkes M, Rajwans N, Liles WC, Villar-Centeno LA, et al. Host biomarkers distinguish dengue from leptospirosis in Colombia: a case–control study. *BMC Infect Dis*. 20 de enero de 2014;14(1):35.
91. Michels M, van der Ven AJAM, Djamiatun K, Fijnheer R, de Groot PG, Griffioen AW, et al. Imbalance of Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 in Severe Dengue and Relationship with Thrombocytopenia, Endothelial Activation, and Vascular Stability. *Am J Trop Med Hyg*. 7 de noviembre de 2012;87(5):943-6.
92. Ong SP, Ng ML, Chu JJH. Differential regulation of angiopoietin 1 and angiopoietin 2 during dengue virus infection of human umbilical vein endothelial cells: implications for endothelial hyperpermeability. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. diciembre de 2013;202(6):437-52.
93. Dietmann A, Helbok R, Lackner P, Fischer M, Reindl M, Lell B, et al. Endoglin in African Children with Plasmodium falciparum Malaria: A Novel Player in Severe Malaria Pathogenesis? *J Infect Dis*. 15 de diciembre de 2009;200(12):1842-8.
94. Kesavan S. An Association between Serum Calcium Level and Severity of Dengue Virus Infection in Government Mohan Kumaramangalam Medical College Hospital, Salem [Internet] [masters]. Government Mohan Kumaramangalam Medical College, Salem; 2020 [citado 7 de febrero de 2024]. Disponible en: <http://repository-tnmgrmu.ac.in/13337/>
95. Grinstein S, Klip A. Calcium homeostasis and the activation of calcium channels in cells of the immune system. *Bull N Y Acad Med*. enero de 1989;65(1):69-79.
96. Faingezicht I, Avila ML. Diagnóstico clínico y de laboratorio del paciente con dengue. *Rev Médica Hosp Nac Niños Dr Carlos Sáenz Herrera*. enero de 1999;34:33-41.
97. Dengue: guías para la atención de enfermos en la región de las Américas. 2a ed. Washington, USA.: OPS; 2016.



### 13. ANEXOS.

#### Ficha de recolección de información.

##### Antecedentes Epidemiológicos

Admitido       Ambulatorio

EDAD \_\_\_\_\_

SEXO       F

M

Residencia: Urbano \_\_\_ Rural \_\_\_ Km del Hospital \_\_\_

##### Ocupación:

Desempleado     Vendedor ambulante

Ama de casa     Empleada domestica

Obrero industrial     Obrero agrícola

Estudiante     Ejercicio profesional     Artesano

Empresario     Comerciante     Pensionado

Discapacitado     Conductor

Oficina/maestro/trabajador de salud

No escuela     No trabaja     Otros \_\_\_\_\_

##### Educación:    Tache el ultimo año Completado

Preescolar: 1\_\_\_ 2\_\_\_ 3\_\_\_

Primaria: 1\_\_\_ 2\_\_\_ 3\_\_\_ 4\_\_\_ 5\_\_\_ 6\_\_\_

Secundaria: 1\_\_\_ 2\_\_\_ 3\_\_\_ 4\_\_\_ 5\_\_\_ 6\_\_\_

Universidad: 1\_\_\_ 2\_\_\_ 3\_\_\_ 4\_\_\_ 5\_\_\_ 6\_\_\_

Analfabeto: Sí \_\_\_ No \_\_\_

Alfabetizado: Sí \_\_\_ No \_\_\_

1. Ha participado usted o algún familiar antes en el estudio:

Paciente: Si \_\_\_ No \_\_\_ Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_



Familiar: Si \_\_\_ No \_\_\_ Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

2. Ha tenido contacto con alguien que ha tenido una enfermedad similar en el pasado:

Si \_\_\_ No \_\_\_

Hace cuánto tiempo: \_\_\_\_\_ semanas

Dónde: Casa \_\_\_ Trabajo o escuela \_\_\_

Otro \_\_\_\_\_

3. Ha viajado fuera de León en los últimos 30 días: Si \_\_\_ No \_\_\_ Inseguro \_\_\_

Donde: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

4. Ha tenido otra enfermedad con fiebre en los últimos 30 días (si la respuesta es No pasar a la pregunta N°7): Si \_\_\_ No \_\_\_

Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Inseguro \_\_\_

Cual: \_\_\_\_\_

5. Visito al médico en el pasado por la misma enfermedad: Si \_\_\_ No \_\_\_

6. Uso antibiótico en el pasado para tratar la enfermedad:

Sí \_\_\_ No \_\_\_

7. Cocinan con leña en su casa: Si \_\_\_ No \_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

8. Fuma o ha fumado en el pasado:

Si, si fumo \_\_\_ Si, deje de fumar \_\_\_

Cantidad en cigarrillos diarios: \_\_\_\_\_

Por cuantos años: \_\_\_\_\_

No, nunca fume \_\_\_



9. Usted padece de asma: Si \_\_\_ No \_\_\_
10. Usted padeció o padece tuberculosis:  
No \_\_\_ Si, sin tratamiento \_\_\_  
Sí, con tratamiento \_\_\_ Tuve \_\_\_
11. Usted fue diagnosticado con Covid-19 por algún personal de salud en el pasado:  
No \_\_\_ Sospechoso \_\_\_ Si \_\_\_  
Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
12. Usted ha recibido la vacuna contra el Covid-19:  
No \_\_\_ Si \_\_\_  
Primera Dosis Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Segunda Dosis Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
13. Ha recibido la vacuna contra el Dengue:  
No \_\_\_ Si \_\_\_ Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
14. Ha recibido la vacuna de la Influenza este año:  
No \_\_\_ Si \_\_\_ Nunca \_\_\_  
<1 año \_\_\_ >1 año \_\_\_
15. Ha recibido la vacuna del Neumococo:  
No \_\_\_ Si \_\_\_ Inseguro \_\_\_
16. Ha recibido la vacuna Haemophilus influenzae:  
No \_\_\_ Si \_\_\_ Inseguro \_\_\_
17. ¿Cuántos córdobas gasto en medicina antes de ir al centro de salud?  
\_\_\_\_\_ Córdoba



**Resultados de exámenes:**

1. Malaria: Si \_\_\_ No \_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_

2. VIH: Si \_\_\_ No \_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_

3. BHC: Si \_\_\_ No \_\_\_

Glóbulos rojos: \_\_\_\_\_ Hematocrito: \_\_\_% Hemoglobina: \_\_\_\_\_ VCM: \_\_\_\_\_ Glóbulos blanco: \_\_\_\_\_

Neutrófilos: \_\_\_\_\_ Células en banda: \_\_\_\_\_ Eosinófilos: \_\_\_\_\_ Basófilos: \_\_\_\_\_ Linfocitos: \_\_\_\_\_

Monocitos: \_\_\_\_\_ Plaquetas: \_\_\_\_\_ Blastos: \_\_\_\_\_

Tiempos: TP: \_\_\_\_\_ TPT: \_\_\_\_\_ INR: \_\_\_\_\_

**5. Química Sanguínea:**

TGO: \_\_\_\_\_ TGP: \_\_\_\_\_ Creatinina: \_\_\_\_\_ Glucosa: \_\_\_\_\_ Bilirrubina Total: \_\_\_\_\_

Bilirrubina Directa: \_\_\_\_\_ Bilirrubina Indirecta: \_\_\_\_\_ Amilasa: \_\_\_\_\_ Lipasa: \_\_\_\_\_

CPK: \_\_\_\_\_ CK: \_\_\_\_\_ Urea: \_\_\_\_\_ BUN: \_\_\_\_\_ LDH: \_\_\_\_\_ Fosfatasa alcalina: \_\_\_\_\_

Proteínas totales: \_\_\_\_\_ Albumina: \_\_\_\_\_ Globulina: \_\_\_\_\_ Relación albumina/Globulina: \_\_\_\_\_

Colesterol: \_\_\_\_\_ Triglicéridos: \_\_\_\_\_ HDL: \_\_\_\_\_ LDL: \_\_\_\_\_ VLDL: \_\_\_\_\_

Calcio: \_\_\_\_\_ Sodio: \_\_\_\_\_ Potasio: \_\_\_\_\_ Cloro: \_\_\_\_\_ Magnesio: \_\_\_\_\_

6. EGO: Si \_\_\_ No \_\_\_

Examen Macroscópico:

Color: \_\_\_\_\_

Aspecto: \_\_\_\_\_

Examen Químico:

Urobilinogeno: \_\_\_\_\_ Glucosa: \_\_\_\_\_ Bilirrubina: \_\_\_\_\_

Cuerpo Cetonicos: \_\_\_\_\_ Densidad: \_\_\_\_\_ pH: \_\_\_\_\_ Sangre: \_\_\_\_\_

Proteínas: \_\_\_\_\_ Nitritos: \_\_\_\_\_

Examen Microscópicos:

Células epiteliales: \_\_\_\_\_ X

Campo Mucosos: \_\_\_\_\_

Glóbulos Blancos: \_\_\_\_\_ X

Campo Levaduras: \_\_\_\_\_

Glóbulos Rojos: \_\_\_\_\_ X

Campo Cristales: \_\_\_\_\_

Bacterias: \_\_\_\_\_ X Campo Cilindros: \_\_\_\_\_



## Consentimiento Informado

CÓDIGO DE PACIENTE \_\_\_\_\_ FECHA \_\_/\_\_/\_\_ INGRESADO POR \_\_\_\_\_ REVISADO  
POR \_\_\_\_\_

FORMULARIO DE INFORMACIÓN, CONSENTIMIENTO Y AUTORIZACIÓN DE PRIVACIDAD PARA PARTICIPANTES EN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN (Casos).

**Título de protocolo:** ESTUDIO DE FIEBRE

**Patrocinador:** UNC- Chapel Hill / DUKE University

**Investigador principal:** Dr. Filemón Bucardo/ Dr. Aravinda de Silva/ Dr. Armando Matute/ Dra. Megan E. Reller

**Fecha:** Febrero 2021

**Estimado participante:**

**Lo que debe saber sobre el presente estudio:**

- Se le ha pedido participar en este estudio, porque usted o su hijo (a) tiene síntomas de fiebre.
- La investigación solamente incluyen personas que están de acuerdo en participar. En el consentimiento informado se explica lo que usted necesitará saber y hacer. Por favor tómese todo el tiempo necesario para leerlo cuidadosamente. No dude en realizar preguntas en cualquier momento sobre algún aspecto que no comprenda.
- Es de naturaleza voluntaria. Su decisión de participar en el estudio no implica, que usted no puede cambiar de opinión más adelante o en cualquier momento; si así lo hiciese no habrá ninguna sanción o pérdida de beneficios.
- El equipo investigador le brindará cualquier tipo de información nueva o cambios que se realicen durante el estudio y que pueda afectar su decisión de continuar participando. La palabra “usted” en este formulario de consentimiento se referirá tanto a su persona, como a su hijo(a) en el periodo de la investigación.

**¿Por qué se está realizando ésta investigación?**

- La fiebre asociada con otros malestares causantes de muchas enfermedades pueden ocasionar la muerte.
- Las causas de fiebre difieren en cada región, clima y grupo de edad. Además algunas requieren de tratamiento y medicación urgente, mientras que otras no ameritan tratamiento específico.



- Esta investigación se está realizando para entender mejor las causas de las enfermedades asociadas con fiebre en Nicaragua.
- El conocer las causas mayores de fiebre en niños y adultos, nos ayudará a determinar las posibles enfermedades que los afectan y orientar a un mejor tratamiento y enfoque de las personas en cuanto a prevención y cura de dichas enfermedades.

### ¿Cuántas personas participarán en el estudio?

- Serán enrolados 1200 pacientes cada año mayor o igual a 1 año de edad.

### ¿Qué implica su participación en este estudio?

Si usted está de acuerdo en participar en el estudio, se le solicita firmar este formulario de consentimiento informado. Posteriormente, se realizará un chequeo médico rutinario en la unidad de salud (hospital HEODRA, Centro de Salud Perla María Norori y Centro de Salud Félix Pedro Picado) y se colectará información sobre su historial médico, se realizará un examen físico, toma de muestra de sangre, saliva, orina e hisopado nasal y se tomará una segunda muestra sanguínea de 2 a 4 semanas después.

### PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO SOBRE LA FIEBRE

La información médica para el Estudio de Investigación sobre la Fiebre será recopilada por un personal clínico calificado a través de un cuestionario y un examen físico, además de su chequeo médico rutinario.

Si usted está de acuerdo en participar en el estudio, necesitaremos recolectar en primera instancia muestra de sangre, saliva y orina, además de hisopados nasales para ayudarnos a determinar de una mejor manera las posibles causas de las infecciones y/o enfermedades que provocan fiebre. También le pediremos que regrese para seguimiento y toma de muestra sanguínea de 2 a 4 semanas posteriores al primer contacto.

### Procedimientos de Investigación: PRIMERA CONSULTA

- Una flebotomista experimentada (Enfermera o Bioanalista Clínico) tomará muestras de sangre, saliva, orina e hisopado nasofaríngeo. Se tomará de una vena de su brazo aproximadamente de 10 a 40 ml ( $\frac{2}{3}$  a  $2 \frac{1}{3}$  cucharadas)
  - Para los participantes de 1 a 4 años de edad, se les tomará cerca de 10 ml ( $\frac{2}{3}$  cucharadas).
  - Para los participantes de 5 a 9 años de edad, se les tomará cerca de 15 ml (1 cucharada).
  - Para los participantes de 10 a 15 años de edad, se les tomará cerca de 20 ml ( $1 \frac{1}{3}$  cucharada).
  - Para los participantes mayores de 15 años de edad, se les tomará cerca de 40 ml ( $2 \frac{2}{3}$  cucharadas).
- Las muestras de sangre para análisis de rutina se obtendrán en el laboratorio.
- Se tomarán muestras de saliva a los niños a través de frotis con hisopos o bulbo estériles para ser luego colocados dentro de un envase esterilizado para transportarlo y en los adultos las muestras de saliva y orina serán recopiladas en frasco estériles recolectores de muestras.



- Se tomarán hisopos nasales a todos los participantes.
- Los resultados de algunos exámenes de sangre estarán disponibles para ayudar a su médico a diagnosticar y tratar su enfermedad. Sin embargo, los resultados de otros exámenes, para los cuales no son utilizados para dar tratamiento médico rutinario y no se realizan normalmente en Nicaragua, no estarán disponibles ni para usted ni para su médico. Estos exámenes nuevos, puede tomar meses conocer los resultados, y todavía no son de uso habitual, ni en otros países extranjeros, además estamos estudiando cómo funcionan. Por lo tanto, los exámenes de esta investigación pueden ser de utilidad para entender las causas de la fiebre en su comunidad y puede ayudar a pacientes como usted en el futuro.
- La información obtenida a través de su chequeo médico habitual durante esta consulta puede ser utilizada en éste **Estudio de Investigación de la Fiebre**.

**Procedimientos de Investigación: SEGUNDA CONSULTA (2 a 4 semanas después de la primera consulta):**

- Recolectar información para saber si usted ha mejorado completamente o no.
- Hacer un breve examen físico si es necesario.
- Extraer muestras de sangre. La cantidad total de sangre tomada de una vena de su brazo para estos exámenes de investigación será aproximadamente de 10 a 40 ml
  - Para los participantes de 1 a 4 años de edad, se les tomará cerca de 10 ml ( $\frac{2}{3}$  cucharadas).
  - Para los participantes de 5 a 9 años de edad, se les tomará cerca de 15 ml (1 cucharada).
  - Para los participantes de 10 a 15 años de edad, se les tomará cerca de 20 ml ( $1\frac{1}{3}$  cucharada).
  - Para los participantes mayores de 15 años de edad, se les tomará cerca de 40 ml ( $2\frac{2}{3}$  cucharadas).

Su participación en el estudio completo no durará más de treinta (30) días, a partir del inicio del mismo y solamente incluirá estas dos consultas médicas. El tiempo estimado de su participación será de aproximadamente dos horas en cada consulta.

**¿Cuáles son los riesgos del estudio?**

Los riesgos de participar en el presente estudio son mínimos e incluyen lo siguiente:

- Toma de muestras de sangre:
  - ✓ La inserción de la aguja puede causar molestia temporal.
  - ✓ Un pequeño hematoma se puede formar en el área, donde se inserte la aguja en la vena seleccionada.
  - ✓ En casos excepcionales, puede ocurrir infección o desmayo (hemofobia).
- Toma de muestra respiratoria (hisopado nasal):
  - ✓ Podría producir molestias temporales como: lagrimeo y deseo de estornudar.



### **¿Hay beneficios al participar en el estudio?**

- Los resultados que se obtengan de todos los exámenes de sangre tomados para los propósitos del presente estudio, estarán disponibles y serán compartidos con su médico y pueden contribuir para las decisiones que se tomen al respecto del mejor tratamiento para curar su enfermedad.
- Su participación en el estudio, puede en el futuro mejorar el tratamiento de las enfermedades asociadas a fiebre en Nicaragua a través del optimizamiento de los exámenes de laboratorio

### **¿Cuáles son sus opciones si no desea participar en el estudio?**

- No es necesario que usted participe en este estudio para recibir su atención médica o tratamiento habitual. Si usted no participa en el estudio su atención médica no será afectada. Todos los exámenes prescritos por su médico que habitualmente se proveen, están disponibles independientemente de su participación en los exámenes del presente estudio.

### **¿Le costará algo participar en el estudio?**

- Las pruebas y exámenes médicos que no conllevan un propósito de investigación son considerados parte de su atención médica habitual y no serán asumidos por este estudio.
- Todas las pruebas realizadas a usted y su familia como parte de este estudio de investigación (exámenes adicionales de sangre y una segunda consulta médica) se proveerán sin ningún costo tanto para usted y como para el hospital.

### **¿Cuánto se le retribuirá si participa en el estudio?**

- Se le dará una pequeña cantidad de dinero (aproximadamente de 200 córdobas) una vez que acuda a la segunda toma de la muestra y consulta de seguimiento en el área de Microbiología de la UNAN-León, para compensar los gastos de transporte y por su tiempo invertido. (2 a 3 horas de trabajo).

### **¿Puede retirarse del estudio antes de tiempo?**

Es posible que usted esté de acuerdo en participar en el estudio ahora y posteriormente cambiar de opinión. En este caso, su decisión no tendrá ningún efecto en su atención médica habitual. Si desea no continuar participando en el estudio, por favor llame al responsable de la investigación y principal investigador, Dr. Filemón Bucardo (89040938) y/o Dr. Armando Matute (88501291) y/o a las oficinas del Departamento de Microbiología 2311-2947 o bien o escriba a [fbucardo@cm.unanleon.edu.ni](mailto:fbucardo@cm.unanleon.edu.ni) o [armando.matute@cm.unanleon.ni](mailto:armando.matute@cm.unanleon.ni)

### **¿Por qué puede ser retirado del estudio?**

Es posible que se le retire del estudio prematuramente si decidimos finalizar la investigación antes del tiempo planificado.

### **¿Qué otros aspectos debe saber sobre el estudio?**



El Comité de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León) protege los derechos y el bienestar de las personas que participan en estudios de investigación. Usted puede contactar al presidente del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAN-León a los teléfonos 2311-2947 si tiene preguntas acerca de sus derechos como participante o si siente que no ha sido tratado convenientemente. También puede llamar a éstos teléfonos: Dr. Filemón Bucardo (89040938) y/o Dr. Armando Matute (88501291), por cualquier otra inquietud o preocupación acerca de esta investigación.

**¿Se requerirá que otros profesionales de la salud que le han atendido provean información sobre su salud a los investigadores de este estudio?**

- Como parte del estudio los investigadores pueden pedir información sobre su historial médico a los profesionales de la salud que le han atendido en el hospital y unidad del centro de salud autorizado. Le pediremos a estos médicos que nos provean información sobre sus consultas recientes por problemas de fiebre lo cual incluye, historial médico, exámenes físicos, y los resultados de exámenes de laboratorio y rayos X.

**¿Qué debe hacer si tiene preguntas sobre el estudio?**

Por favor, llame al responsable de la investigación y principal investigador, Dr. Filemón Bucardo (89040938) y/o Dr. Armando Matute (88501291) o escríbale al correo electrónico [fbucardo@cm.unanleon.edu.ni](mailto:fbucardo@cm.unanleon.edu.ni) o [armando.matute@cm.unanleon.edu.ni](mailto:armando.matute@cm.unanleon.edu.ni) Si no puede contactarle o desea contactar a alguien más, llame al Presidente del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAN-León (2311-4675).

**¿Será su información tratada de manera privada?**

Toda la información del estudio que le identifique será manejada confidencialmente tal y como lo ordena la ley. Excepto que la ley lo requiera, usted no será identificado por nombre, razón social, número de seguridad social, dirección, teléfono o cualquier otra información directa que dé a conocer su identidad. Cualquier identificador personal será guardado en archivos confidenciales en la Facultad de Medicina de la UNAN-León y solamente será vista por el personal responsable del estudio y su personal médico. Para la información que será revelada se le asignará un único número codificado. La clave de dicho número será guardado en un archivo con llave en la oficina del Dr. Filemón Bucardo, principal responsable del estudio.

**¿Qué ocurre con las muestras de sangre del estudio?**

- Algunas de sus muestras clínicas serán examinadas localmente en laboratorios de Nicaragua y estas pruebas estarán disponibles para el análisis por parte de su médico. El resto de sus muestras clínicas serán enviadas a laboratorios en los Estados Unidos para realizar pruebas que no se realizan en Nicaragua.
- Estos resultados no estarán disponibles para su atención médica ya que toma tiempo procesarlos y en la actualidad no se conocen plenamente. Los resultados estarán



disponibles para los investigadores de la UNAN-León, UNC – Chapel Hill y Duke University para ayudar a comprender mejor las causas de enfermedades asociadas con fiebre en su comunidad. No obstante, UNC – Chapel Hill y Duke University no manejarán ninguna información que revele su identidad. Estas muestras clínicas se retendrán por parte del actual equipo investigador hasta que los exámenes del presente estudio estén completos o hasta que las muestras sean utilizadas completamente ya que las mismas pueden ayudarnos a desarrollar y evaluar los mejores exámenes para un diagnóstico rápido de patógenos (organismos) que causan fiebre en Nicaragua.

- Su muestra clínicas serán identificada por un número codificado de manera que su identidad permanezca anónima; toda la información de las muestras de sangre que pueda identificarle será eliminada. La única persona que tendrá acceso a la identificación del número codificado será el Dr. Filemón Bucardo, quien mantendrá la información codificada que vincula el código con su nombre y el número del hospital, en archivos confidenciales en la Facultad de Medicina de la UNAN-León.

### **¿Quiénes tendrán acceso y podrán manejar los datos y las muestras clínicas que sean recolectados en el estudio?**

- Los datos y muestras clínicas recolectadas durante el transcurso de este estudio pueden ser muy útiles para el desarrollo de nuestro actual conocimiento sobre las causas de fiebre en Nicaragua. Al estar de acuerdo en participar en esta investigación, usted autoriza a las contrapartes de este proyecto de colaboración (UNAN-León, UNC – Chapel Hill y Duke University) para poder usar sus datos y muestras clínicas para propósitos del uso de las más recientes pruebas de laboratorio existentes para evaluar patógenos (organismos) que causan enfermedades febriles en Nicaragua. UNAN-León, UNC – Chapel Hill y Duke University mantendrán estos datos y muestras clínicas hasta que los exámenes estén completos o hasta que se hayan utilizado completamente las muestras clínicas. No utilizaremos estas muestras de sangre para proyectos de investigación no relacionados con el presente estudio sin su consentimiento. Si en cualquier momento usted decide que no desea que sus muestras clínicas sean utilizadas para esta investigación, por favor notifique al Dr. Filemón Bucardo de manera escrita o envíe un correo a [fbucardo@cm.unanleon.edu.ni](mailto:fbucardo@cm.unanleon.edu.ni) o [armando.matute@cm.unanleon.edu.ni](mailto:armando.matute@cm.unanleon.edu.ni) y todos sus datos y muestras clínicas serán destruidos.

### **Declaración de consentimiento**

- Dado que mi hijo puede participar en el estudio me han explicado en lenguaje que él/ella puede entender. Se le ha animado a hacer preguntas acerca del estudio en este momento, y en cualquier otro momento en el futuro.

### **¿Qué implica su firma/huella digital en este formulario de consentimiento?**

Su firma en este formulario implica que:

- Usted entiende el propósito de este estudio, los procedimientos a seguir, y los riesgos y beneficios le han sido explicados.
- Se le ha permitido hacer preguntas libremente y se le han respondido todas sus interrogantes
- Usted sabe a quién contactar si tiene preguntas adicionales.



## Análisis de hipocalcemia en muestras de pacientes con infección viral por Dengue serotipo 4



- Usted está de acuerdo en participar en el estudio y queda claro que puede retirarse en el momento que así lo desee.
- Se le ha informado que se le dará una copia firmada de este formulario de consentimiento, si lo solicita.

### Futuros contacto:

Nos gustaría su permiso para poder comunicarnos con usted acerca de otros estudios en el futuro que usted puede ser elegible.

Por favor colocar las iniciales de su nombre en la opción que prefieras de las que se les dará a continuación:

\_\_\_\_\_ Sí, usted puede contactarme en el futuro acerca de otros estudios.

\_\_\_\_\_ No, no quiero que me contacten para otros estudios en el futuro.

---

\_\_\_\_\_

Firma/ huella digital de Participante para Individuos mayores de 18 años

Fecha:

---

\_\_\_\_\_

Firma de la persona que obtiene el consentimiento Fecha:

---

\_\_\_\_\_

Nombre del menor de 1-17 años participante del estudio

Fecha:

---

\_\_\_\_\_

Firma/ huella digital de Padre/Tutor para Menores de 1-17 años

Fecha:

---

\_\_\_\_\_

Firma/ huella digital del Menor que otorga el consentimiento de entre 12-17 años de edad Fecha



---

Firma de testigo del procedimiento de consentimiento    Fecha

---

Firma de la persona que obtiene el consentimiento    Fecha: