

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA- LEÓN
ÁREA DEL CONOCIMIENTO DE CIENCIAS MÉDICAS



Tesis para optar al Título de:
“Máster en Bioquímica Clínica”

Tema: Evaluación de marcadores bioquímicos y hematológicos clásicos en el diagnóstico diferencial por dengue y otras enfermedades febriles.

Área de Investigación: Salud Pública, Enfermedades Crónicas e Infecciosas
Línea de investigación: Enfermedades Infecciosas

Autor:

- Lic. Jeferson Leonel Campos Téllez
Docente de área básica
Sección Bioquímica

Tutor: Dr. Fernando Salazar Antón. M.Sc. PhD
Profesor Titular
Director de la Carrera de Bioanálisis Clínico

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA – León
ÁREA DEL CONOCIMIENTO DE CIENCIAS MÉDICAS



Tesis para optar al Título de:
“Máster en Bioquímica Clínica”

Tema: Evaluación de marcadores bioquímicos y hematológicos clásicos en el diagnóstico diferencial por dengue y otras enfermedades febriles.

Área de Investigación: Salud Pública, Enfermedades Crónicas e Infecciosas
Línea de investigación: Enfermedades Infecciosas

Autor:

- Lic. Jeferson Leonel Campos Téllez
Docente del departamento de Área Básica
Sección Bioquímica

Tutor: Dr. Fernando Salazar Antón. M.Sc. PhD
Profesor Titular
Director de la Carrera de Bioanálisis Clínico

2024: “45/19” ¡LA PATRIA, LA REVOLUCION!

Dedicatoria

A Jehová, por haberme brindado sabiduría para salir adelante.

Querido maestros y amigos,

Con profundo agradecimiento y admiración, dedico esta tesis a cada uno de ustedes, quienes han sido fundamentales en mi camino personal y profesional. Su presencia y apoyo han dejado una huella indeleble en mi vida, y este logro no habría sido posible sin su invaluable contribución.

A mis maestros, quienes han sido guías y mentores a lo largo de esta travesía académica, les agradezco por su dedicación y pasión por la enseñanza. Su sabiduría, paciencia y constante estímulo han sido la brújula que nos ha guiado en este arduo proceso de investigación. Cada conversación, cada consejo y crítica constructiva han sido invaluable para nuestro crecimiento y desarrollo como profesional. Gracias por compartir sus conocimientos y por inspirarnos a superar nuestros propios límites.

A mis Padres, por su amor incondicional y su apoyo constante en este proceso.

Agradecimientos

- ✚ Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido de manera significativa en la realización de esta tesis.

- ✚ A mi tutor de tesis PhD. Fernando Salazar, por su orientación experta y su dedicación a lo largo de todo el proceso. Su guía y retroalimentación han sido fundamentales para el éxito de este trabajo.

- ✚ A Dr. Norlando Chávez Durón por su compromiso inquebrantable y su incansable labor y por facilitarme información de utilidad para la recolección de datos necesaria para esta tesis.

- ✚ Al la Dirección de Bioanálisis clínico por su ayuda en la preparación de muestras y el análisis molecular, lo que ha facilito enormemente el desarrollo de mi investigación.

- ✚ Al MSc. Ana Cecilia Chevez por permitirme y utilizar los recursos del laboratorio de Bioquímica para salir adelante en el análisis químico de mis muestras.

- ✚ A las autoridades de UNAN – León, por permitirme realizar este estudio y brindarme apoyo en toda la trayectoria de este largo proceso.

- ✚ A todas las personas que de una u otra forma me brindaron su apoyo para la realización de la tesis.

- ✚ A cada uno de ustedes mi más sincero agradecimiento.

Resumen

Evaluación de marcadores bioquímicos y hematológicos clásicos en el diagnóstico diferencial por dengue y otras enfermedades febriles.

Introducción: El dengue es una enfermedad viral prevalente a nivel mundial, los casos notificados a la OMS han pasado de 505,430 en 2000 a 5,2 millones en 2019, esta enfermedad causa un alto porcentaje de morbilidad y mortalidad entre los pacientes de todas las edades. La alteración de los niveles biomarcadores durante la infección por dengue aporta información sobre el diagnóstico temprano y evolución de la enfermedad.

Objetivo: Determinar la concentración de biomarcadores, y evaluar su utilidad en el diagnóstico diferencial de las infecciones por dengue y otras enfermedades febriles.

Metodología: A través de un estudio descriptivo analítico de casos y controles anidado de pacientes febriles, se obtuvo información relacionada al cuadro clínico de los pacientes a través del llenado de una ficha epidemiológica, posterior a la firma de los consentimientos informados, se seleccionaron pacientes positivos de dengue (43) a través de pruebas moleculares y pacientes febriles con diagnóstico negativo para dengue (45), se recolectó una muestra sanguínea durante la fase aguda de la enfermedad, para determinar los niveles de calcio sérico e iónico, proteínas totales albumina, hematocrito, plaquetas entre otros parámetros hematológicos. Utilizando pruebas estadísticas se analizaron las variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio. **Resultados:** La edad promedio fue de 21.0 con una desviación estándar de 12.9 en los casos de dengue. Los síntomas más frecuentes en los casos: dolor de cabeza ($p=0.02$), dolor articular ($p=0,049$), dolor retroorbital ($p=0.045$), el rash ($p=0.009$) y epistaxis ($p=0.009$). Se encontró diferencias significativas entre las medias de los casos y los controles en los siguientes parámetros: recuento de glóbulos blancos ($p 0.011$), recuento de plaquetas ($p <0.001$), VCM ($p 0.021$), porcentaje de linfocitos ($p 0.001$), porcentaje de neutrófilos ($p <0.001$) y proteínas totales ($p 0.011$). **Conclusiones:** El mejor predictor de dengue en la fase aguda de la infección fue el recuento de plaquetas con una sensibilidad (88%), especificidad (70%) tomando como referencia un valor de corte $<175,500 \text{ mm}^3$. El porcentaje de neutrófilos y linfocitos presento una sensibilidad igual o mayor al 70%.

Palabras claves: Dengue, Biomarcadores, Enfermedades Febriles.

Abreviaturas

ADE	Amplificación de la infección dependiente de anticuerpos
ARN	Ácido ribonucleico
Ca²⁺	Calcio iónico
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
DENV	Virus del Dengue
DF	Fiebre del Dengue
DHF	Dengue hemorrágico grave
DSS	Síndrome de shock por dengue
DSSA	Dengue sin signos de alarma
DSCA	Dengue con signos de alarma
HLA	Antígeno leucocitario humano
MINSA	Ministerio de salud
NS1	Proteína no estructural 1 del virus del dengue
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RGT	Reactivo de trabajo
RT-PCR	PCR con transcriptasa reversa
STD	Estándar
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización panamericana de la salud

Índice

1.	Introducción.....	1
2.	Objetivos.....	3
2.1	Objetivo General	3
2.2	Objetivos Específicos	3
3.	Marco Teórico	3
3.1	Epidemiología.....	3
3.2	Estructura y Clasificación del virus del dengue	7
3.3	Patogénesis del dengue	8
3.4	Biomarcadores pronósticos	11
3.5	Características Clínicas	17
3.6	Diagnóstico diferencial del dengue	23
4.	Material y Métodos.....	26
5.	Resultados	44
6.	Discusión de resultados.....	48
7.	Conclusiones.....	55
8.	Recomendaciones.....	56
9.	Referencias	57
10.	Anexos.....	67

1. Introducción

El virus del dengue (DENV) es un flavivirus potencialmente mortal que se transmite por mosquitos *Aedes* hembra, especialmente *A. aegypti*, *A. albopictus* y *A. vitattus*.(1,2) y además incluye cuatro serotipos diferentes (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4).(3,4)

EL DENV es un virus esférico y envuelto con una capa proteica externa bien organizada en la superficie de una bicapa lipídica y una nucleocápside interna.(5) Los síntomas clínicos del dengue varían desde fiebre leve hasta dengue hemorrágico grave (DHF) o síndrome de shock por dengue (DSS), con trombocitopenia, leucopenia y aumento de la permeabilidad vascular.(6,7)

Aunque la infección primaria provoca la activación de las respuestas inmunitarias contra los serotipos de DENV, la gravedad de la enfermedad aumenta mediante la infección heterotópica por varios serotipos, así como por la amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (ADE).(6,8) Se calcula que aproximadamente 100 millones de personas padecen cada año la enfermedad de forma sintomática, y tres cuartas partes de los 390 millones de infecciones que se estima cada año, son clínicamente inaparentes.(9,10)

En Nicaragua el dengue ha sido un problema de salud pública constante, se han reportado epidemias de dengue con casos graves y muertes. La organización panamericana de salud (OPS) reporto hasta la semana 36 de 2023, los siguientes datos en nuestro país: de los 94.576 casos de dengue notificados, 2.797 (2,95%) fueron confirmados por laboratorio y 12 (0,01%) fueron clasificados como dengue grave. Los casos reportados a la semana 36 del 2023 son 83% superiores en comparación con el

mismo periodo del 2022 y 1,87 veces superiores en comparación al promedio de los últimos 5 años. En el mismo periodo, se notificó una defunción (TL: 0,001%).(11)

Uno de los principales problemas en el manejo del dengue es la dificultad para distinguir tempranamente esta arbovirosis de otras causas de síndrome febril agudo, además de superponerse geográficamente y por vectores en común, causan infecciones importantes con síntomas inespecíficos (p. ej., enfermedad febril, con exantema, mialgia y/o artralgia). El diagnóstico diferencial del dengue incluye enfermedades como influenza, enfermedad diarreica, rubéola, fiebre tifoidea y leptospirosis, entre otras entidades infecciosas, cuya presentación clínica es muy similar.(12–14)

Debido a la baja especificidad de sus síntomas, para la vigilancia epidemiológica del dengue se ha hecho énfasis en la identificación de anticuerpos específicos y en el aislamiento del virus.(15) Sin embargo, dado que los resultados de estas pruebas no están disponibles en los primeros días de la enfermedad, cuando se requieren para establecer pautas de manejo, es necesario encontrar herramientas clínicas que permitan un diagnóstico temprano.

La enfermedad del dengue se caracteriza por manifestaciones complejas, en donde la clave del éxito en su manejo consiste en la identificación temprana de los signos y síntomas, con la consecuente comprensión de los problemas clínicos durante las diferentes fases de la enfermedad, lo cual hace necesario contar con marcadores de laboratorio que permitan identificar los diferentes momentos de evolución de la enfermedad a fin de aplicar un enfoque racional de su abordaje. Este estudio tiene como principal objetivo determinar la concentración de biomarcadores y evaluar su utilidad en el diagnóstico diferencial de las infecciones por dengue y otras enfermedades febriles.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

- Determinar la concentración de biomarcadores y evaluar su utilidad en el diagnóstico diferencial de las infecciones por dengue y otras infecciones febriles.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las características socio-epidemiológicas de los pacientes en estudios.
- Determinar la concentración sérica de biomarcadores en los casos y controles.
- Relacionar el cuadro clínico y la concentración de biomarcadores en los casos y controles.
- Evaluar el punto de corte, sensibilidad y especificidad de los marcadores bioquímicos y hematológicos en el estudio.

3. Marco Teórico

3.1 Epidemiología

Durante las últimas décadas, la fiebre del dengue, ocasionada por el virus del dengue (DENV), ha suscitado una gran preocupación en materia de salud pública.(16) Lo que es más relevante, es que esta enfermedad ha sido clasificada como una "enfermedad

tropical desatendida".(17) A nivel global, se registran aproximadamente 400 millones de casos de dengue y 22,000 defunciones anualmente. Resulta destacable que, la infección por dengue suele pasar inadvertida y se encuentra establecida en ciclos de transmisión endémica y epidémica.(16,18) Durante los últimos 50 años, la incidencia del dengue ha aumentado 30 veces. Las epidemias de DENV ocurren anualmente en América, Asia, África y Australia, también afectan a viajeros de regiones endémicas y de los efectos en la salud pública, estas epidemias tienen un impacto económico masivo en los países afectados.(19)

Dengue a nivel mundial: El primer brote de dengue se reportó en 1779 en Yakarta, Indonesia y El Cairo.(20) Sin embargo, el primer brote confirmado en América del Norte, fue el brote de Filadelfia en 1780.(21) En 2010, se reportaron más de 1,6 millones de casos de dengue en toda América del Norte y del Sur, de los cuales 49.000 fueron casos graves. El mayor brote de dengue se registró en 2016, con más de 2,38 millones de casos reportados. En este brote, la mayor contribución fue en Brasil, con 1,5 millones de casos.(22)

Las epidemias de dengue fueron reportadas en África Oriental, Occidental y Meridional desde principios del siglo XIX.(23) Desde 1980 hasta 2000, varios brotes de dengue en países del este y oeste de África fueron causados por serotipos 1, 2 y 3 del virus del dengue. Muchos casos de dengue se han reportado durante cinco grandes epidemias en países africanos: Seychelles (1977-1979), Isla Reunión (1977-1978), Djibouti (1992-1993), Comoras (1992-1993) y Cabo Verde (2009).(24,25) Las epidemias de dengue se convirtieron en una carga en los países del sudeste asiático después de la Segunda Guerra Mundial, principalmente debido a la urbanización(26). Los primeros dos brotes de fiebre hemorrágica del dengue se reportaron en Filipinas en 1953 y 1956, respectivamente. Después de 1950, las epidemias de dengue ocurrieron cíclicamente

todos los años en países del sudeste asiático, incluyendo Filipinas, Bangkok, Tailandia, Bután, Brunéi, Camboya, Timor Oriental, Indonesia, Laos, Malasia, Myanmar, Singapur y Vietnam.(24,26) Entre 2004 y 2010, Indonesia tuvo el segundo número más alto de casos de dengue después de Brasil. Durante 2009-2010, la mayoría de los casos de dengue fueron debidos al serotipo 4 en Indonesia. Los estudios de 174 brotes que ocurrieron entre 1990 y 2015 informaron datos del serotipo de dengue. El mayor número de brotes de mono-infección fue causado por DENV-2 (36, 20,7%), seguido por DENV-1 (29, 16,7%), DENV-3 (19, 10,9%) y DENV-4 (7, 4,0%). La coinfección con más de un serotipo DENV se informó en el 47,7% de los brotes; los brotes que involucraron a los cuatro serotipos fueron los más comunes (25, 14,4%), seguidos de la coinfección con DENV-1 y DENV-2 (16, 9,2%) y la coinfección DENV-1, DENV-2 y DENV-3 (12,9%).(6)

Dengue en Nicaragua: Nicaragua ha experimentado una transmisión endémica del virus del dengue (DENV) con múltiples serotipos desde 1985.(27) Nicaragua es un país tropical (11° a 15°N) donde el *Aedes aegypti* está bien establecido. Los cuatro serotipos de DENV han estado circulando en Nicaragua durante décadas, aunque la prevalencia y el dominio del serotipo varían anualmente. Hiperendemicidad, donde múltiples serotipos co-circulan. En la misma temporada de transmisión, es cada vez más común.(28–31) Uno de los primeros brotes importantes de dengue ocurrió en Managua, en 1985, lo que resultó en más de 17.000 casos, y fue causado por la co-circulación de DENV-1 y -2.(32) En respuesta, se iniciaron esfuerzos de control y erradicación de vectores, y los brotes de dengue siguieron siendo limitados, excepto por la transmisión periódica de DENV-1, DENV-2 y DENV-4 a principios de la década de 1990. Sin embargo, en 1994-95, una introducción de DENV-3 causó una epidemia importante con una enfermedad que incluye DHF/DSS.(31,33–35)

Los diferentes serotipos DENV analizados mostraron distintos patrones de circulación y evolución. DENV-1 es endémico de Nicaragua y ha circulado periódicamente desde

2004-2005. El análisis filogenético indica que los aislados DENV-1 de Nicaragua se encuentran dentro del genotipo V estadounidense/africano. Sin embargo, dentro de este genotipo, las muestras nicaragüenses divergen en dos linajes distintos, los cuales parecen haber circulado de forma conjunta desde su introducción en el país. Ambos linajes incluyen muestras de mediados de la década de 2000, lo que sugiere que se diversificaron al mismo tiempo.(36)

DENV-2 ha sido notable por las epidemias en Nicaragua asociadas con enfermedades graves a partir de 2005, donde una combinación de genotipo de virus e inmunidad previa del huésped demostró ser particularmente virulenta durante múltiples temporadas de transmisión.(37) DENV-2 en Nicaragua se encuentra dentro del genotipo asiático/americano, que ha dominado en el país desde 1999.(28,38) DENV-2 se diversificó aún más en tres linajes (NI-I, -IIa y -IIb), uno de los cuales, el NI-I, fue más virulento en personas con inmunidad DENV-1 adquirida previamente, mientras que el NI-IIb fue más virulento en personas con inmunidad DENV-3 adquirida previamente. El reemplazo de linaje de NI-I por NI-IIb, se hizo evidente en 2016, a pesar de caer a niveles indetectables en años anteriores.(37,39)

Las cepas DENV-2 nicaragüenses secuenciadas de 2013 a 2016, se encuentran dentro del clado NI-IIb, que consiste en 2 sublíneas principales e incluye muestras extranjeras de la región, esto sugiere un intercambio geográfico con otros países de la región (p. ej. México, Guatemala, Honduras). Hay varias sinamorfos (mutaciones derivadas únicas compartidas a nivel de nucleótidos) que distinguen este linaje NI-IIb, de los clados anteriores de DENV-2, NI-I y NI-IIa en Nicaragua y las pruebas de selección indican un fuerte apoyo estadístico para la selección positiva episódica. DENV-3 dominó en Nicaragua entre 2009 y 2011, y luego circuló a niveles más bajos hasta 2014, después

ya no se detectó. El DENV-3 aislado en Nicaragua se encuentra dentro del genotipo III (subcontinente indio), pero no ha seguido diversificándose en linajes estructurados.(36)

3.2 Estructura y Clasificación del virus del dengue

El virus del dengue es un virus de ácido ribonucleico, monocatenario, esférico, perteneciente a la familia flaviviridae. Se conocen cuatro serotipos capaces de producir la enfermedad. Estos cuatro serotipos son antigénicamente muy semejantes entre sí y la infección por un serotipo produce inmunidad de por vida para el mismo e inmunidad temporal para los otros serotipos.(24) El DENV consta de una simple cadena de ácido ribonucleico de sentido positivo, con un genoma de aproximadamente 11,000 nucleótidos (nt), que se traduce como una sola poliproteína, que a continuación es escindida en 3 proteínas estructurales: Cápside (C), Membrana (M) y Envoltura (E) y 7 proteínas no estructurales: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4, NS4B, NS5.(5,40)

Las funciones de las proteínas no estructurales incluyen un ARN-dependiente de la ARN polimerasa (RdRp), metiltransferasa (NS5) y helicasa/proteasa (NS3). La región codificante está flanqueada por una 5'UTR (Región no traducida) de aproximadamente 98 nt y una 3'UTR de 388 – 462 nt.(41) El extremo 5' del ARN está cubierto por una caperuza y el extremo 3' carece de cola poli A. En ambos extremos del genoma están presentes secuencias no codificadoras necesarias para los procesos de replicación, transcripción y traducción, las cuales se asocian con la posible estructura secundaria del genoma. El codón de iniciación se corresponde con AUG, que inicia un marco de lectura abierto sin interrupción de aproximadamente 10.250 nucleótidos, donde están codificadas 10 proteínas virales. Las proteínas estructurales se localizan hacia la porción 5' Terminal y el segmento restante abarca las proteínas no estructurales. (6)

Figura 1. Estructura genómica con secuencia poliproteica del virus del dengue. (6)

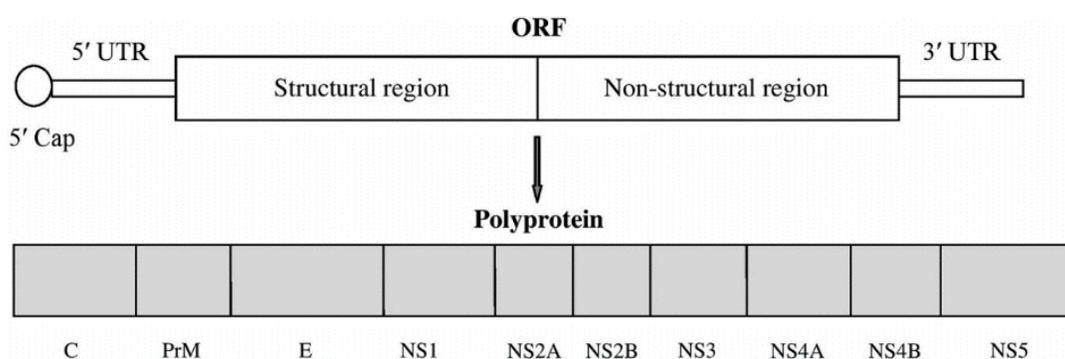
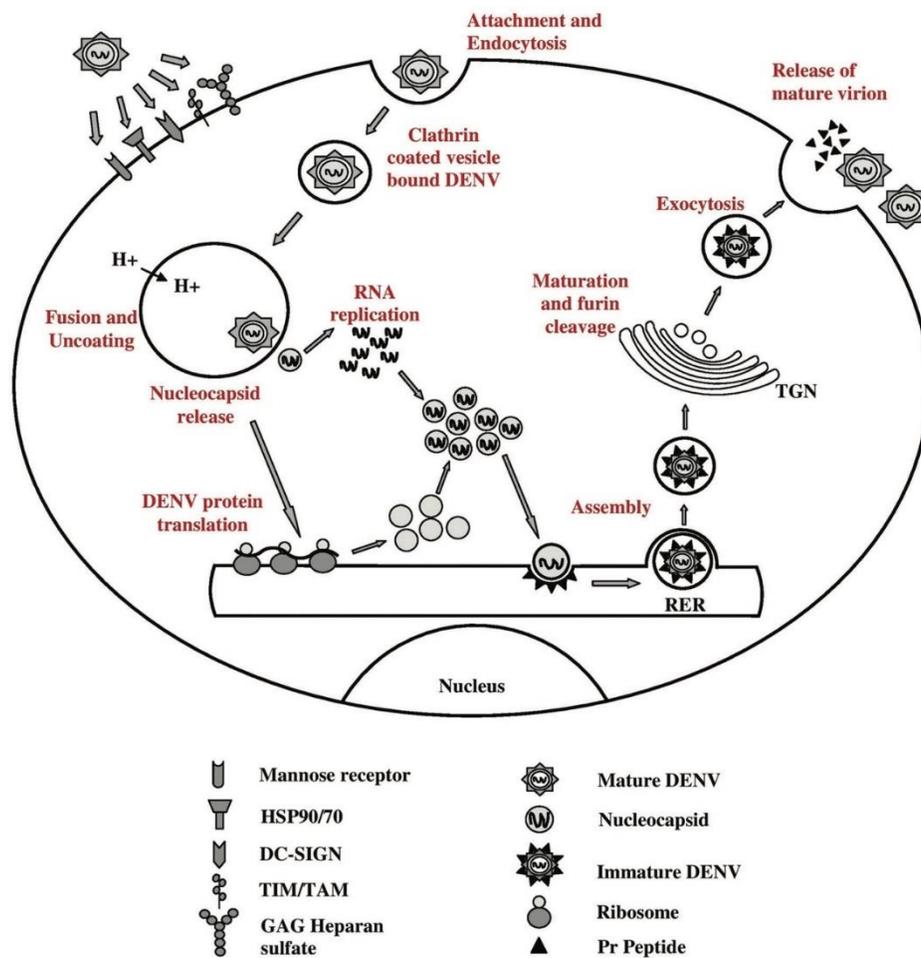


Figura 2. Proceso de internalización del virus del dengue en la célula huésped y su ciclo de vida. (6)



3.3 Patogénesis del dengue

Patogénesis mediada por el sistema inmunitario en la infección por el virus del dengue: La patogénesis de la infección por DENV, se atribuye a la compleja interacción entre el virus, la edad temprana, el sexo femenino, un alto índice de masa corporal, la

cepa viral y variantes genéticas de la secuencia B, del complejo mayor de histocompatibilidad humano (MHC) y de la fosfolipasa C épsilon 1, o la infección secundaria en forma de dos infecciones secuenciales por diferentes serotipos.(42)

Implicación de las células T en la patogénesis de la infección por DENV: Las células T-CD8 tienen funciones críticas en la neutralización de los virus dañinos, también han estado implicadas en la patogénesis de la infección por DENV. Las manifestaciones graves del dengue ocurren de 10 a 20 días, en pacientes con infección secundaria por DENV, lo que sugiere la memoria del sistema inmunológico adaptativo a un serotipo DENV aumenta el riesgo de gravedad durante la infección secundaria con diferentes serotipos(42,43). Los síntomas graves como la fuga vascular, la coagulopatía y la tormenta de citoquinas se producen de forma prominente cuando la viremia está disminuyendo rápidamente.(43)

La infección primaria por DENV induce la activación de células T-CD8 vírgenes para diferenciarse en células T efectoras, que eliminarán la infección ya sea lisando directamente las células infectadas por el virus o produciendo citoquinas. La presencia de diversos epítomos de células T restringidos por HLA en diferentes proteínas, se observa en individuos que son inmunes a la infección por DENV. La identificación de las proteínas estructurales y no estructurales de DENV está mediada por las células T-CD4 y CD8, respectivamente. Las células T pueden responder a una infección secundaria causada por un serotipo DENV diferente basado en el epítomo reconocido.(44–46)

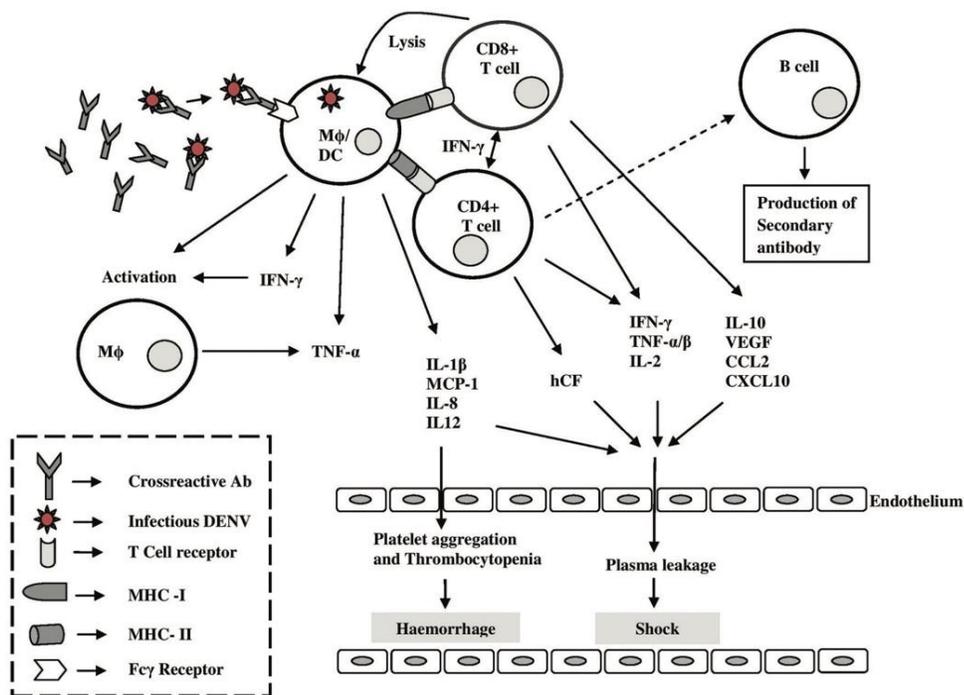
Por lo general, se desarrolla una respuesta inmune robusta en individuos que previamente estuvieron expuestos al mismo serotipo, mientras que una respuesta de células T del serotipo cruzado se desarrolla después de una infección secundaria. Se observó un aumento de las frecuencias de las células T específicas de DENV en la infección aguda por DENV, y estas células representaron fenotipos activados.(47)

Inmunopatogénesis mediada por la mejora dependiente de anticuerpos: Los anticuerpos específicos de DENV realizan una amplia gama de funciones. Estos anticuerpos eliminan la infección a través de varios mecanismos, incluida la restricción de la unión viral a los receptores de la superficie celular o inhibiendo la internalización viral después de la unión en la superficie celular. Los anticuerpos neutralizantes se dirigen principalmente a la proteína de la envoltura (E) y están dirigidos contra casi todos los epítomos.(48) Tanto los monocitos como los macrófagos expresan los receptores de inmunoglobulina.

El tropismo de DENV para estos receptores proporciona una oportunidad para que los anticuerpos específicos de DENV fomenten la entrada viral, conocido como amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (ADE).(49) El fenómeno de ADE contribuye a la forma grave de la enfermedad y podría clasificarse como un tipo de inmunopatología.(50) Los anticuerpos de la infección anterior no son eficientes para neutralizar el virus en la infección secundaria.

El complejo anticuerpo-virus se une al receptor Fcγ presente en los monocitos circulantes y causa infección en estas células, lo que resulta en un aumento de la replicación viral y un mayor riesgo de dengue grave. Hay dos tipos de ADE, a saber, extrínseco e intrínseco. El fenómeno extrínseco se produce externamente a los fagocitos mononucleares e implica un aumento de la tasa de interacción con los receptores y la internalización del complejo virus-inmune. El ADE intrínseco contribuye a mejorar la producción de virus al inhibir el interferón de tipo 1, activar la biosíntesis de IL-10 y favorecer una respuesta inmune de tipo Th2.(51,52)

Figura 3. La amplificación de la infección dependiente de anticuerpos (ADE) provoca una fuga de plasma grave. (51)



3.4 Biomarcadores pronósticos

El calcio (Ca²⁺) es un catión con capacidad multifuncional como segundo mensajero en diferentes grupos celulares del sistema inmunitario que incluyen linfocitos T y B,

macrófagos, mastocitos, etc. Su distribución en los espacios intra y extracelular hace que para su utilización y movilización se requiera de bombas y canales especializados, y la influencia del estado de despolarización o repolarización celular. Además, la cantidad y la duración del flujo de Ca^{2+} van a determinar el tipo y la duración de sus efectos en la señalización intracelular. (53)

Calcio y señalización de linfocitos: Una vez el linfocito T o B es activado por su receptor y por el proceso de coestimulación, se produce el reclutamiento y una activación de un grupo de proteínas tirosincinasas, unidas a otras proteínas adaptadoras que lleven a la fosforilación y activación de la fosfolipasa C- γ (PLC γ 1 en linfocitos T y PLC γ 2 en linfocitos B), esta enzima, a su vez, hidroliza el fosfatidilinositol-3,4 bifosfato (PIP2) de la membrana celular a 2 segundos mensajeros: IP3, Diacilglicerol (DAG). (54)

El IP3 se desplaza entonces y se une a su receptor ubicado en la membrana del retículo endoplásmico (RE), causando la salida del Ca^{2+} almacenado en su interior y la activación de otras señales intracelulares. Sin embargo, el agotamiento rápido del Ca^{2+} en el RE llevaría a una respuesta a este ión de corta duración. Para facilitar la prolongación de las respuestas celulares, se debe activar otra vía de entrada del Ca^{2+} , denominada SOCE, la cual fue recientemente descubierta por búsquedas a gran escala de ARN de interferencia.(55) La SOCE actúa a través de canales CRAC y su mecanismo de activación depende de la interacción de 2 moléculas reguladoras: (54,55)

- Un sensor del Ca^{2+} en el RE o molécula de interacción estromal (STIM-1, del inglés stromal interaction molecule).
- Una subunidad poro del canal CRAC.

Activación de vías de señalización posterior al influjo de calcio: Una vez se logra incrementar el nivel de Ca^{2+} intracitoplasmático, se activan otras vías de señalización y

factores de transcripción que finalmente se unen al ADN y dan lugar a la producción de todas las proteínas, citocinas, etc., relacionadas con la cascada inflamatoria. Dentro de estas vías tenemos:

- La vía de la calmodulina —calcineurina, con activación final del factor nuclear de células T activadas (NFAT, del inglés nuclear factor of activated T cells).
- La vía de la cinasa dependiente de Ca^{2+} —calmodulina (CaMK), que tiene como factores de transcripción la proteína unida al elemento de respuesta al monofosfato de adenosina cíclico (CREB) y el factor aumentador del miocito 2.
- La vía del factor nuclear κB (NF- κB)
- Al momento de la hidrólisis del PIP₂, también se obtiene DAG, el cual a su vez puede activar 2 vías adicionales de señalización: Vía de la proteína cinasa y PKC.(56–58)

Hipocalcemia en el dengue: La hipocalcemia se ha demostrado en otras enfermedades tropicales, como la leptospirosis y el paludismo, se observa con mayor frecuencia en infecciones graves; sin embargo, los efectos clínicos de los niveles bajos de calcio en la sangre en estas condiciones no están claros.(59)

Se han sugerido varias causas para los niveles bajos de calcio en la sangre, incluida la actividad reducida de la trifosfatasa de adenosina (ATPasa) $Na^{+}-K^{+}$, la actividad reducida de la ATPasa de Ca^{2+} , la deficiencia adquirida de la hormona paratiroidea, la insuficiencia renal de una alfa hidroxilasa, la ingesta reducida de vitamina D en la dieta y la reducción de la ingesta de vitamina D en la dieta. Se han demostrado niveles bajos de calcio en la sangre en la infección por dengue y pueden estar presentes en más del 80 % de los pacientes. Suele pasar desapercibida, pero puede presentarse con tetania. Hay poca información sobre los otros efectos de la hipocalcemia, por ejemplo, efectos sobre el ritmo cardíaco y la contractilidad. Existe alguna 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 relación con la mortalidad.(60–62)

El posible papel del calcio en la inmunopatogénesis del dengue: En estudios in vitro, se demostró que la depleción de Mg^{2+} y Ca^{2+} mejora la unión del virus del dengue a los monocitos, macrófagos y células de los linajes de células T y B.(63) Se ha demostrado que el Ca^{2+} es esencial para la actividad citotóxica de la citotoxina de macrófagos (CF2) inducida por el virus del dengue tipo 2 (DV); Se ha demostrado que la muerte celular se relaciona con un aumento del Ca^{2+} intracelular.(64,65) El Ca^{2+} parece desempeñar una función en la inducción de células T colaboradoras específicas del dengue. Se ha demostrado que el antígeno del dengue aumenta la entrada de Ca^{2+} en las células T. La proliferación de células T colaboradoras específicas del dengue parece depender del Ca^{2+} y se inhibe en ausencia de Ca^{2+} y por fármacos antagonistas de los canales de calcio.(66) En otro estudio in vitro, la producción de citoquinas supresoras (SF) inducidas por DV por células de bazo cultivadas se inhibió cuando se agotó el calcio del medio; la producción se restableció mediante la adición de calcio al medio. Tanto la producción de SF como la transmisión de la señal supresora a través de macrófagos singénicos (M phi) para reclutar la segunda subpoblación de células T supresoras (TS2) fueron inhibidas de manera dependiente de la dosis por los antagonistas de los canales de calcio verapamilo y nifedipina.(67) Existe cierta evidencia de que la producción de nitrito en respuesta a la infección por el virus del dengue también depende del calcio y puede ser inhibida por fármacos bloqueadores de los canales de calcio. Por lo tanto, el calcio parece desempeñar un papel en la respuesta inmunitaria en el dengue, aunque las interacciones son complejas y las implicaciones clínicas precisas de estas interacciones aún no están claramente definidas.(68)

El papel potencial del calcio en el tratamiento del dengue: El calcio es necesario para la agregación plaquetaria, aunque se desconoce su función precisa.(69,70) En una serie de casos en cinco pacientes que padecían dengue, se notificó que la administración de carbonato de calcio y vitamina D3 por vía oral resultó en una mejoría clínica, sin embargo, no hubo un grupo de control. Los recuentos de plaquetas y las características clínicas mejoran espontáneamente en el dengue; por lo tanto, estos hallazgos son insuficientes para concluir que la mejora fue el resultado de la intervención.(71) En un estudio de casos y controles de 10 pacientes con características clínicas de dengue, se observó un aumento significativo en el recuento de plaquetas luego de la administración oral de carbonato de calcio, también se observó una mejoría clínica significativa, con un tiempo más corto hasta la recuperación clínica en el grupo de tratamiento. En general, no hay pruebas sólidas del beneficio de que los suplementos de calcio sean beneficiosos en el dengue, aunque las pruebas limitadas sugieren que es un área que necesita más estudio.(72)

Otros biomarcadores pronósticos de la infección por dengue: Muchos estudios sugieren que los niveles elevados de PCR (Proteína C Reactiva) y AST (Aspartato aminotransferasa) en suero en la enfermedad temprana (hasta 96 h de fiebre) se asocian con un mayor riesgo de progresión a dengue hemorrágico (clasificación de la OMS de 1997) o dengue grave (clasificación de la OMS de 2009).(73)(73) Los niveles elevados tempranos de VCAM-1 (proteína de adhesión de células vasculares 1) y SDC-1 (sindecano-1) también se asocian con un mayor riesgo de dengue grave, mientras que el aumento de IL-8 y la disminución de la albúmina se asociaron con un mayor riesgo de dengue hemorrágico. La asociación con enfermedad grave y AST (aspartato aminotransferasa) elevada se observó de manera consistente en todas las clasificaciones de gravedad de la enfermedad.(15,75,76)

Los principales biomarcadores asociados con DHF tienen un tema "hepatocéntrico" común. La elevación de AST refleja una lesión hepatocelular resultante de una infección viral directa o de la inflamación asociada son la fuente probable de esta observación. La PCR es un reactante de fase aguda producido por el hígado en respuesta a la inflamación aguda. La albúmina sérica, una proteína plasmática multifuncional producida por el hígado, es un reactante de fase aguda negativo, lo que significa que se regula a la baja en estados inflamatorios, o puede catabolizarse o perderse de la circulación en las primeras etapas de la fuga de plasma. Todos estos patrones sugieren que quienes padecen DHF tienen una afectación hepática temprana más profunda.(15,74)

El IL-8 o el factor quimiotáctico de neutrófilos es un biomarcador asociado con DHF, pero la acumulación de neutrófilos en el hígado no es una característica de la hepatitis del dengue. Esta quimiocina, producida por macrófagos, células epiteliales y células endoteliales, no solo sustenta la inflamación neutrofílica aguda, sino que también promueve la angiogénesis. Sin embargo, en la fiebre del dengue temprana, a veces se observa una neutrofilia, antes de la linfocitosis relativa, y la IL-8 puede desempeñar un papel en esta manifestación. Nuevamente, este efecto puede ser más profundo en aquellos que desarrollan DHF.(77)

Los sindecanos (SDC) son proteínas de dominio transmembrana (proteoglicanos) que interactúan con varios factores de crecimiento, VEGF (Factor de crecimiento endotelial-vascular), FGF (factor de crecimiento fibroblástico), TGF- β (Factor de crecimiento transformante beta) lo que lleva a su activación y desempeñan un papel importante en la adhesión de célula a célula o de célula a matriz extracelular. El sindecano-1 se expresa predominantemente en células epiteliales y plasmáticas. La VCAM-1 es otra molécula de adhesión celular de la superfamilia de inmunoglobulinas, que se expresa en células endoteliales en la inflamación después de la estimulación por citocinas como TNF- α , IL-

1, IL-4). La elevación de estos dos biomarcadores (VCAM-1 y SDC-1) de forma selectiva en aquellos que desarrollan dengue grave es interesante y potencialmente insinúa un papel directo y temprano de estas moléculas en la patogénesis de la enfermedad y la fuga de plasma. Dado que los pacientes con dengue grave generalmente tienen peores resultados que los de la forma no grave, es plausible que los perfiles de biomarcadores tempranos asociados con estos dos resultados puedan ser diferentes.(75,76)

La PCR y la AST son biomarcadores tempranos de manifestaciones graves independientemente de la clasificación del resultado. Es interesante que la elevación de ALT (alanina aminotransferasa), la segunda transaminasa que también se libera con la necrosis de los hepatocitos y la inflamación hepática, no se asoció ni con la fiebre del dengue ni con la DHF. Esto plantea la posibilidad de que parte de la elevación de AST en suero pueda provenir del músculo esquelético, dado que la mialgia es un síntoma destacado en la infección temprana por dengue.(14)(73)

3.5 Características Clínicas

La clasificación recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), es la llamada clasificación revisada, la cual surgió a partir de los resultados DENCO (Dengue Control) y establece dos formas de la enfermedad Dengue con o sin signos de alarma y Dengue grave.(78)

Dengue sin signos de alarma (DSSA): Personas que viven o han viajado en los últimos 14 días a zonas con transmisión de Dengue y presenta fiebre habitualmente de 2 a 7 días de evolución y 2 o más de las siguientes manifestaciones: (79,80)

- Evacuaciones diarreicas.
- Exantema (puede ser morbiliforme es de aparición centrífuga, se presenta con mayor frecuencia en los primeros 2 a 4 días y demora 4 días).
- Enantema (faringe hiperémica, petequia en paladar blando sin exudado).
- Nauseas.
- Cefalea / dolor retro orbitario.
- Mialgia / Artralgia.
- Petequia o prueba del torniquete positiva.
- Leucopenia.

Dengue con signos de alarma (DCSA): La mayoría de los signos de alarma son consecuencia de un incremento de la permeabilidad capilar, por lo que marcan el inicio de la fase crítica.(81) Cuyos signos son:

- Dolor abdominal referido por el paciente o referido durante el interrogatorio y/o dolor a la palpación del abdomen.
- Vómito único o persistente (≥ 3 episodios en 1 hora o 4 en 6 horas).
- Acumulación de líquidos: derrame pleural, ascitis o derrame pericárdico sin que se asocie a dificultad respiratoria ni compromiso hemodinámico.
- Sangrado activo de mucosas: en encías, nariz, transvaginal (metrorragia e hipermenorrea) vómito con estrías sanguinolentas o hematuria macroscópica.
- Hepatomegalia >2 cm
- Aumento progresivo del hematocrito, en al menos dos mediciones consecutivas durante el seguimiento del paciente, con un espacio de al menos 4 horas.
- Lipotimia.

Este a su vez se divide en B1 y B2. El B1 es Dengue sin signos de alarma con circulación estable, pero que presenta comorbilidad(es) o riesgo social. El B2 es Dengue con signos

de alarma, hemodinámicamente estable y presente ≥ 1 de los signos o síntomas cerca de la caída o en la caída de la fiebre.(81,82)

Dengue Grave: Presenta alteración de los parámetros hemodinámicos ya sea en fase de choque inicial o hipotensivo.(83)

Se define por uno o más de los siguientes criterios:

- Choque o dificultad respiratoria debido a la extravasación del plasma.
- Pulso débil o indetectable, taquicardia, extremidades frías, llenado capilar >2 segundos, presión de pulso ≤ 20 mmHg, piel moteada.
- Sangrado considerado clínicamente importante (Melena, hematemesis, metrorragia voluminosa).
- Compromiso grave de órganos (miocarditis, hepatitis, encefalitis).
- Daño hepático: AST O ALT ≥ 1000 UI.
- Sistema nervioso central: alteración de la conciencia
- Corazón: miocarditis

Figura 4. Clasificación del dengue (84)

Dengue sin signos de alarma - DSSA	Dengue con signos de alarma - DCSA	Dengue grave - DG
<p>Persona que vive o ha viajado en los últimos 14 días a zonas con transmisión de dengue y presenta fiebre habitualmente de 2 a 7 días de evolución y 2 o más de las siguientes manifestaciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Náuseas / vómitos 2. Exantema 3. Cefalea / dolor retroorbitario 4. Mialgia / artralgia 5. Petequias o prueba del torniquete (+) 6. Leucopenia <p>También puede considerarse caso todo niño proveniente o residente en zona con transmisión de dengue, con cuadro febril agudo, usualmente entre 2 a 7 días y sin foco aparente.</p>	<p>Todo caso de dengue que cerca de y preferentemente a la caída de la fiebre presenta uno o más de los siguientes signos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Dolor abdominal intenso o dolor a la palpación del abdomen 2. Vómitos persistentes 3. Acumulación de líquidos (ascitis, derrame pleural, derrame pericárdico) 4. Sangrado de mucosas 5. Letargo / irritabilidad 6. Hipotensión postural (lipotimia) 7. Hepatomegalia >2 cm 8. Aumento progresivo del hematocrito 	<p>Todo caso de dengue que tiene una o más de las siguientes manifestaciones:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Choque o dificultad respiratoria debido a extravasación grave de plasma. Choque evidenciado por: pulso débil o indetectable, taquicardia, extremidades frías y llenado capilar >2 segundos, presión de pulso ≤ 20 mmHg: hipotensión en fase tardía. 2. Sangrado grave: según la evaluación del médico tratante (ejemplo: hematemesis, melena, metrorragia voluminosa, sangrado del sistema nervioso central (SNC)) 3. Compromiso grave de órganos, como daño hepático (AST o ALT ≥ 1000 UI), SNC (alteración de conciencia), corazón (miocarditis) u otros órganos
<p>Requieren observación estricta e intervención médica inmediata</p>		

Evolución de la enfermedad.

Fase Febril: El paciente presenta fiebre alta y repentina. Habitualmente esta fase febril aguda dura de 2 a 7 días y a menudo es acompañada de rubor facial, exantema, cefalea, dolor retro orbitario, dolor corporal generalizado, mialgia, artralgia. La presencia de anorexia, náuseas y vómitos y evacuaciones diarreicas también es común y pueden presentarse antes de las manifestaciones febriles. También puedan presentar: odinofagia e hiperemia en faringe y conjuntivas.(7)

Manifestaciones hemorrágicas leves en la piel como petequias, equimosis y sangrado de mucosas (epistaxis y sangrado transvaginal), también puede presentarse un aumento de tamaño del hígado y sensible a la palpación. Las alteraciones del hemograma que se presentan como un descenso significativo de los leucocitos, de igual forma la prueba del torniquete positiva en esta fase aumenta la posibilidad de un diagnóstico de Dengue.(7,82)

Las manifestaciones clínicas de esta fase febril del dengue son iguales en los pacientes que presentan la forma grave y no grave de la enfermedad. Por lo tanto, es importante monitorizar los signos de alarma clínicos y de laboratorio que indican progresión de la fase febril a la fase crítica.(82)

Fase Crítica: Se produce entre en 3 – 7 día, cuando la fiebre desciende y se mantiene a 37.5°C o menos. En este tiempo de defervescencia los pacientes pueden mejorar o empeorar. En esta fase ocurre un aumento de la permeabilidad capilar en paralelo con aumento de los niveles de hematocrito y descenso de las plaquetas, marcando así el inicio de la Fase Crítica del dengue. El período de fuga plasmática por lo general dura de 48 a 72 horas o más tiempo y se presenta frecuentemente entre el 3ro y 7mo día de la enfermedad.(7,16)

La leucopenia seguida de la disminución progresiva del recuento plaquetario usualmente procede a la fuga plasmática. En este punto, los pacientes con permeabilidad capilar leve mejoraran mientras que aquellos con mayor permeabilidad capilar pueden empeorar como resultado de la pérdida o fuga del volumen plasmático. La presencia de derrame pleural, pericárdico y ascitis pueden ser clínicamente detectables en función de la cantidad de plasma fugado y del volumen de la terapia de líquidos intravenosos.(7)

El choque ocurre cuando hay gran pérdida del volumen plasmático, casi siempre es precedido por la aparición de signos de alarma que es acompañada por temperatura corporal por debajo de sus niveles normales. Cuando el período de choque es prolongado esto conduce a falla orgánica, acidosis metabólica, coagulopatía de consumo y hemorragias graves causando un descenso del hematocrito y a su vez un choque severo.(7,16)

Los pacientes que presentan deterioro se clasifican como dengue con signos de alarma, cuyos casos mejoraran con la hidratación intravenosa oportuna y adecuada; sin embargo, algunos casos evolucionarían y se clasificarían como dengue grave.(7)

Fase de Recuperación: Una vez que el paciente ha sobrevivido la fase crítica, tiene lugar una reabsorción gradual del líquido del compartimiento extravascular al intravascular en las siguientes 48 a 72 horas. Durante esta fase hay mejoría del estado general, vuelve el apetito, disminuyen los síntomas gastrointestinales, hay estabilización de la condición hemodinámica y la diuresis vuelve a la normalidad. En ocasiones puede haber rash de islas blancas en un mar rojo. En esta fase es común la bradicardia y alteraciones electrocardiográficas leves.(7)

El hematocrito se estabiliza o puede ser menor a la inicial debido al efecto de dilución del líquido reabsorbido. Los leucocitos y neutrófilos comienzan a incrementar luego de la defervescencia. La recuperación del recuento plaquetario suele ser posterior al del conteo leucocitario y puede durar varios días.(7)

Cuadro 1. Problemas clínicos de las fases febril, crítica y de recuperación del dengue. (7)

Fase	Problemas Clínicos
Febril	Deshidratación, la fiebre alta puede asociarse a trastornos neurológicos y convulsiones en niños.
Crítica	Choque por la extravasación de plasma; hemorragias graves, compromiso grave de órganos.
Recuperación	Hipervolemia (si el tratamiento intravenoso con líquidos ha sido excesivo o se ha extendido en esta fase) infección bacteriana, edema pulmonar e insuficiencia cardíaca.

3.6 Diagnóstico diferencial del dengue: Al inicio de la enfermedad el Dengue no se puede distinguir de otras infecciones víricas, bacterianas o protozoarias. Por esto se debe de realizar una amplia historia clínica con el objetivo de encontrar datos relevantes para realizar diagnóstico diferencial, así como un examen físico completo. Se debe considerar como diagnóstico diferencial infección por malaria a todo paciente febril y enviar gota gruesa. (82)

Cuadro 2. Diagnostico diferencial del dengue frente a otros arbovirus. (81)

Signos y síntomas	Dengue	Chikungunya	Zika
Motivo de consulta más frecuente	Fiebre, mialgias	Dolor articular, fiebre	Exantema o prurito
Fiebre	Moderada Muy frecuente	Intensa Muy frecuente	Leve Muy poco frecuente

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

	Duración: 4-6 días	Duración:3-5 días	Duración:1-3 días
Exantema	Aparece del 5° al 7° día No característico	Aparece del 2° al 3° día No característico	Típicamente desde el día 1 Maculo-papular Cefalocaudal
Prurito	Leve a intenso	Leve a moderado	Moderado a severo
Conjuntivitis	Poco frecuente	Muy poco frecuente	Muy frecuente
Manifestaciones neurológicas	Poco frecuente	Poco frecuente (puede ser frecuente y grave en neonatos)	Posible y grave
Cefalea	Intensa y frecuente	Leve a moderada	Leve a moderada
Dolor retroocular	Intenso y frecuente	Poco frecuente	Poco frecuente
Poliartralgia	Ausente	Muy frecuente	Frecuente
Poliartritis	Ausente	Frecuente	Frecuente
Edema de manos y pies	Poco frecuente	Frecuente	Poco frecuente
Evolución a cronicidad	No	Muy frecuente	No descrito
Mialgias	Muy frecuente e intensa	Frecuente Modera a intensa	Poco frecuente
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

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

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
PCR	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 Barré

4. Materiales y Métodos

Tipo de Estudio: Analítico de casos y controles anidado.

Periodo del estudio: Septiembre a octubre del año 2022.

Población de Estudio: Estuvo conformada por pacientes mayores de 1 año, que asistieron al Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales (HEODRA) de la ciudad de León y, que fueron enrolados en el estudio de cohorte del proyecto de investigación sobre Enfermedades Febriles Agudas (AFI) de la UNAN-LEON, donde se determinó la prevalencia de fiebre causada por virus como: dengue, zika y chikungunya, influenza y/o bacterias como *Rickettsiae*, *Leptospira*, además de otros agentes patógenos que afectan a la comunidad.

Muestra y muestreo: Se estudiaron 43 casos de dengue tipo 4 confirmados por RT-PCR Trioplex, más PCR convencional para tipificación y 45 controles que presentaban fiebre aguda por causas diferentes. El muestreo fue aleatorio por conveniencia. Sin embargo, se realizó el cálculo para determinar el tamaño de la muestra para casos y controles 1:1, considerando un poder del estudio del 80%, un nivel de confianza del 95%, un OR previsto de 3 y la frecuencia de exposición entre los controles 50% ($p_2=0.5$) (85), estos datos fueron obtenidos de estudios previos. Posteriormente sustituimos los valores en la formula siguiente y obtuvimos un total de 58 casos y 58 controles, estos datos fueron corroborados en Excel.

$$n = \frac{\left[z_{1-\alpha/2} \sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Definición de Casos: Pacientes que presentaron fiebre mayor o igual a 38°C, que hayan sido positivos para Dengue por RT-PCR Trioplex y que tuvieran resultados de biometría hemática completa (B.H.C) en sus expedientes.

Definición de Controles: Pacientes que presentaron fiebre mayor o igual a 38°C, que hayan sido negativos para dengue por RT-PCR Trioplex y que tuvieran resultados de BHC en sus expedientes.

Criterios de inclusión:

Se incluyeron pacientes mayores de 1 año que se confirmaron utilizando métodos moleculares de diagnóstico (RT-PCR) con infección por dengue. Pacientes que cumplieron las siguientes condiciones: ingresos menores a 48 horas en la UAF (unidad de atención a febriles), ingesta de antipirético antes de acudir a la UAF, fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ documentada o activa.

- Ser mayor de un año de vida.
- Fiebre menor de 10 días.
- Presentar fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$

Criterios de Exclusión:

Se excluyeron todo aquel paciente cuyo expediente o ficha recolectada se encontró incompleta, o que no tenía las muestras sanguíneas en fase aguda. Todo paciente que realizo algún viaje fuera de León, en los próximos 30 días después del inicio de síntomas. Con algún tipo de Cirugía en los últimos 7 días o si presentaba algún tipo de incapacidad física, mental o emocional para dar su consentimiento, o aquellos que presentaban alguna alteración hematológica que dificultaba la toma de muestras.

- Haberse realizado cirugía en los últimos 7 días.
- Padecer de algún tipo de alteración hematológica.
- Fiebre no documentada.

Muestreo y recolección de la información

La fuente de información fue secundaria, ya que los datos de los pacientes se obtuvieron a través de la revisión de expedientes clínicos, fichas epidemiológicas y resultados de laboratorio: RT-PCR Triplex y convencional para dengue más tipificación y biometría hemática completa y análisis químicos por espectrofotometría.

Obtención y conservación de la muestra: Se procedió a la obtención de una muestra de sangre. Se tomaron 5ml de muestra sanguínea del antebrazo en un tubo Vacutainer con EDTA. Las muestras fueron debidamente rotuladas y trasladadas al Laboratorio de Microbiología de la UNAN-León en termos con refrigerantes para mantener una temperatura entre 4-8 °C hasta el momento del análisis; en el laboratorio, la muestra sanguínea será centrifugada a 3,000 rpm por 5 minutos para obtener el plasma y paquete globular. Una vez separados los plasmas, se transfirieron a crioviales para ser guardados a -80 °C y los paquetes globulares guardados a 4 °C hasta ser analizados.

Análisis de Laboratorio

Purificación de ARN: Se extrajo ARN viral de 140 µl de fase sérica aguda utilizando el minikit de ARN viral QIAamp (Qiagen, Hilden, Alemania) según las instrucciones del fabricante. Se recogió un total de 60 µl de ARN y se almacenó a -20 °C para la detección del dengue mediante triplex RT-PCR.

PCR-Triplex para Diagnóstico de Dengue: La detección del dengue se llevó a cabo utilizando el ensayo de RT-PCR en tiempo real CDC-Triplex (DenV, ZIKV y ChikV); en resumen, se agregaron 5 µl de ARN a una mezcla de reacción que constaba de 12,5 µl de tampón 2X RT-qPCR, 1 µl (10 pmol) de cada cebador y sonda de dengue (SO3684), Zika (SO3685) y chikungunya (SO3685), 1 µl de AgPath-ID™, 3,5 µl de agua libre de ARNasa, hasta un volumen final de 25 µl. Las reacciones de RT-qPCR se realizaron en una placa de reacción de 96 pocillos utilizando Bio-Rad FCX Maestro 1.1 versión 4.1.2433.1219 (BIO-RAD Laboratories, Hercules, CA-©2017), sistemas de PCR siguiendo estas condiciones, 50 °C para 30 min, 95°C durante 2 min, seguido de 40 ciclos de 95°C durante 15 s, 60°C durante 1 min. Se consideró positiva cualquier muestra con un umbral de ciclo (Ct) ≤38. En cada lote de reacciones se incluyó un control sin plantilla

(NTC) y se utilizó como control positivo el sobrenadante de la cepa ZIKV FP, serotipos Dengue 1-4 y Chikungunya.

Serotipado 1-4 del dengue mediante PCR convencional directa: Los cebadores basados en la posición del genoma 134-644, descritos por Lanciotti y colaboradores (*J Clin Microbiol.* 1992) se utilizaron para el serotipado del dengue; en resumen, la mezcla de PCR contenía 5 μ l de ADNc, 1 μ l (10 pmol) de cada cebador directo e inverso (D1, TS1, TS2, TS3 y TS4), 19 μ l de agua libre de RNasa y 1 perla de PCR PuReTaq Ready-To-Go (GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Suecia). La reacción de PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: 95°C por 5 min, seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 s, 55°C por 1 min, 72°C por 1 min, con una extensión final de 72° C durante 10 min. Se realizó electroforesis en gel para identificar un amplicón de 482 pb, lo que indica la presencia de D1, 119 pb para D2, 290 pb para D3 y 392 pb para D4.

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 a 25 °C.

Muestra: Suero, plasma con heparina o EDTA

Esquema de pipeteo

Pipetear en las cubetas	Blanco de reactivo	Muestra / STD
Muestra / STD	-	20 μ l
RGT	1000 μ l	1000 μ l

Mezclar, incubar por 10 minutos, de 20...25°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 buffer 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 22 a 25 °C.

Muestra: Suero o plasma heparinizado

Esquema de pipeteo

Pipetear en las cubetas	Blanco de reactivo	Muestra / STD
Muestra / STD	-	20 μ l
Reactivo de trabajo	1000 μ l	1000 μ 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

Las interferencias por contaminación por el material de laboratorio utilizado serán minimizadas usando material nuevo y tubos de ensayo lavados con ácido clorhídrico diluido al 0.1 M.

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 a 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 μ l
RGT	1000 μ l	1000 μ l
Mezclar e incubar por 5 minutos de 20 a 25 ⁰ C, medir la absorbancia de la muestra y del estándar frente al blanco de reactivo antes de 30 minutos (Δ A)		

Valores de referencia

3.8 – 5.1 g/dl o 38 – 51 g/l

Principios de pruebas Hematológicas y procedimientos.

Pruebas Hematológicas	Principios

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Hematocrito	En esta prueba se mide la cantidad de eritrocitos de la sangre en porcentaje del total, o lo que es lo mismo, el porcentaje de células que transportan oxígeno frente al volumen total de sangre, determinado por proceso de centrifugación. En este proceso, se pueden apreciar dos niveles, los elementos formes que se sedimentan, y el plasma total que flota.
Hemoglobina	Al mezclar la sangre con el reactivo de DRABKIN, se transforma la hemoglobina en cianometahemoglobina, la intensidad de color de esta reacción es medida en un fotocolorímetro o espectrofotómetro.
Glóbulos Rojos	La sangre se diluye con una solución isotónica, conservando íntegros a los eritrocitos, impidiendo a su vez, que se hinchen o se contraigan, pero también esta solución destruye a los leucocitos. Luego, esta dilución se coloca en una cámara de Neubauer con la ayuda de una pipeta automática, Pasteur o de Thoma y se cuentan cada uno de los eritrocitos al microscopio con el objetivo de 40X, para calcular el número de eritrocitos por mm ³
Volumen corpuscular medio (VCM)	El caculo de los índices eritrocitarios se lleva a cabo mediante las siguientes fórmulas de Wintrobe: $VCM = \frac{\text{Hematocrito} \times 10}{\text{número de eritrocitos (en millones/mm}^3)}$
Plaquetas	El recuento de plaquetas consiste en conocer el número de elementos que se encuentran por microlitro de sangre. Para esto es necesario hacer una dilución de la sangre con un líquido diluyente (Oxalato de amonio 1% y cristal violeta) que hace visible a las plaquetas y a la vez destruye los eritrocitos, posteriormente se analiza un volumen conocido de la muestra en la cámara de Neubauer, contando el número de plaquetas en la retícula y mediante un cálculo se obtiene el número de plaquetas por mm ³ .

Glóbulos Blancos	En el método de Turk se utiliza una solución de ácido acético al 2% que tiene como función lisar los eritrocitos para evitar interferencias en el recuento
Extendido Periférico	Los leucocitos son parte fundamental del tejido hemático y presentan las siguientes características: son células que tienen un mayor diámetro que los eritrocitos, presentan un núcleo de forma irregular, su citoplasma presenta algunas granulaciones las cuales son teñidos con diferentes colorantes, y la cromatina del núcleo puede ser de diferentes densidades. Pueden distinguirse 5 tipos de leucocitos maduros (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos)

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos a partir de los resultados de las pruebas de laboratorio y la revisión de expedientes y fichas epidemiológicas fueron analizados en el software SPSS versión 22. Se calcularon frecuencias y porcentajes para describir características socio epidemiológicas de la población, además se calculó el promedio y desviación estándar para la variable edad.

Se utilizó tablas de 2x2 para la asociación de los hallazgos clínicos y el perfil hematológico de los casos y los controles, la prueba de estadístico de Chi cuadrado para el estudio de variables categóricas como: escalofríos, vomito, dolor abdominal, dolor de cabeza, dolor articular, dolor muscular, rash, dolor retroorbital y epistaxis y para el estudio de variables cuantitativas como: Hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), glóbulos blancos, neutrófilos, linfocitos, calcio total, calcio iónico, proteínas totales y albumina se emplearon pruebas de normalidad. Las variables que seguían una distribución normal fueron analizadas mediante el estadístico T-student para dos muestras independientes y las que no fueron analizadas mediante U de Mann Whitney.

Se utilizaron análisis de curvas ROC para evaluar la utilidad de los parámetros hematológicos y bioquímicos, conocer el área bajo la curva y establecer el punto de corte de cada uno, se recodificaron las variables numéricas y se establecieron relaciones entre la variable de agrupación de casos y controles con las variables recodificadas de los marcadores en tablas de 2x2 para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, usando el “diagnostic test calculator”.

Consideraciones Éticas

El proyecto de investigación científica AFI ha sido aprobado por el comité de investigaciones biomédicas de la UNAN-León en acta No. 23. A todas los participantes se les explicó los objetivos del estudio y se les solicitó la firma de un consentimiento informado. Todos los pacientes que asisten en el HEODRA y cumplan con los criterios de inclusión, tienen igual oportunidad de participar en este estudio.

Operacionalización de las Variables

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.		Años	Escala numérica
Sexo	condición física que distingue hombres y mujeres		Fenotipo	1= Masculino 2= Femenino
Procedencia	Lugar de origen	Espacial	Área	1= Urbana 2= Rural
Ocupación	Actividad o trabajo que realiza la persona encuestada.	Trabajo	Tipo	1= estudiante 2= Ama de casa 3= pensionado 4=oficina/maestro/trabajador de salud 5=comerciante 6=otros
Escolaridad	Nivel de educación	Educación		1= primaria 2= secundaria

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	más alto que una persona ha terminado			3= universitario 4= analfabetizado 5= preescolar
Síntomas clínicos	Aumento temporal de la temperatura del cuerpo por encima de 38°C	Fiebre	Presencia	Si No
	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	Rinorrea	Presencia	Si No

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	drenaje de líquido claro o mucoso de la nariz			No sabe
	Cuando no hay expectoración.	Tos seca	Presencia	Si No No sabe
	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

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	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 más evacuaciones intestinales líquidas en 24 horas	Diarrea	Presencia	Si No No sabe
	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	Dolor de cabeza	Presencia	Si No

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	perímetro del cráneo			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
	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	Alergias	Presencia	Si No No sabe

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	inmunológico por extrema sensibilidad del organismo			
	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 inflamación por infección	Dolor de oído	Presencia	Si No No sabe
	Cuando no es capaz de oír tan bien como una persona cuyo sentido del	Sordera	Presencia	Si No No sabe

"EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES"

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	oído es normal			
	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 calculado y corregido con proteínas	Ca ⁺⁺ = PI (6x Ca)-3 (PT+6)= mg/dL	Numérico en mg/dl
Calcio sérico	Concentración del Ion	Concentración de calcio sérico total	Resultado de	Numérico en mg/dl Los valores normales van de 8.5 a 10.5 mg/dL

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	calcio en suero		laboratorio	
Hematocrito	Indicador que determina el grado de anemia según la OMS.	Determinación de hematocrito	Resultado de laboratorio	Valor numérico expresados en porcentaje
Hemoglobina	Indicador que determina la anemia o Nivel de oxígeno que es transportado a nuestro cuerpo.	Determinación de hemoglobina	Resultado de laboratorio	Resultado expresado en gr/dl
Glóbulos Blancos	Indicador de infecciones producidas por gérmenes.	Conteo de glóbulos blancos	Resultado de laboratorio	Número glóbulos Blancos/mm ³
Glóbulos Rojos	Indicador de células de la serie roja en	Conteo de glóbulos rojos	Resultado de	Número glóbulos rojos/mm ³

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Variable	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor
	sangre periférica		laboratorio	
Reacción en Cadena de la polimerasa	Resultado de PCR triplex	Confirmación de caso de dengue por diagnóstico molecular	Resultado de laboratorio	1= Positivo 2= Negativo
Plaquetas	Componentes de la hemostasia sanguínea	Conteo de plaquetas	Resultado de laboratorio	Número plaquetas /mm ³

5. 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
	Analfabetizado	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	DE
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 (66%) 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

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

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

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

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^o3: Asociación entre la Concentración de Biomarcadores en los casos y controles.

Biomarcadores	Casos		Controles		P
	Promedio	DE	Promedio	DE	
Hematocrito (%)	38.68	4.39	37.36	4.25	0.156
G. rojos (10 ⁶)	4.629	0.5436	4.636	0.5119	0.954
VCM (fl)	82.8	5.49	80.2	4.74	0.021
Neutrófilos (%)	65.8	16.72	53.1	12.13	<0.001
Linfocitos (%)	32.5	17.1	43.8	11.8	<0.001
Plaquetas (mm ³)	145,002	25,675	202,475	46,678	<0.001
Ca. Total (mg/dl)	9.8	0.934	10.2	1.138	0.057
Ca. Iónico (mg/dl)	4.1	0.603	4.0	0.544	0.371
Proteínas (g/dl)	7.8	1.613	8.7	1.553	0.011
Albumina (g/dl)	4.7	0.583	4.5	0.577	0.082
	Mediana	(Q1 –Q3)	Mediana	(Q1 – Q3)	
Hemoglobina (g/dL)	13.3	(4 -17)	12.7	(11 - 16)	0.707
G. blancos (mm ³)	5,500	(2,100-13,400)	6,900	(3,800-15,200)	0.011
Temperatura (°C)	38.7	(37.0 – 42.0)	38	(36.4 – 40.0)	0.003

Al comparar las medias de las concentraciones de biomarcadores hematológicos y bioquímicos se encontró diferencias significativas en los siguientes parámetros: recuento de glóbulos blancos (p 0.011), recuento de plaquetas (p <0.001), VCM (p 0.021), porcentaje de linfocitos (p 0.001), porcentaje de neutrófilos (p <0.001) y proteínas totales (p 0.011).

Tabla N°4: Utilidad diagnóstica de los diferentes biomarcadores para la identificación de fiebre por Dengue.

Biomarcador	Punto de corte	Sens. (%)	Espec. (%)	VPP (%)	VPN (%)	ABC
Ca. Total	<10.05 mg/dl	65	49	61	64	0.625
Ca. iónico	<4.18 mg/dl	47	31	39	38	0.417
Proteínas	<7.95 gr/dl	67	56	59	64	0.675
Albumina	<4.55 gr/dl	49	49	48	50	0.420
Hb	>13.2 gr/dl	51	60	55	56	0.523
Hto	>36.5 %	60	53	55	59	0.595
G. Rojos	>4.6050 x10 ⁶	51	56	52	54	0.517
G. Blancos	<6,650 mm ³	65	56	58	63	0.658
VCM	>80.3 fl	65	56	58	63	0.640
Neutrófilos	>53.5%	72	49	57	65	0.717
Linfocitos	<43.5%	70	47	55	62	0.702
Plaquetas	<175,500 mm ³	88	70	73	86	0.866

El recuento de glóbulos blanco y el VCM presentan una sensibilidad y especificidad del 65% y 56% respectivamente y un área bajo la curva de 0.658 para glóbulos blancos y 0.640 para VCM. El porcentaje de Neutrófilos presento una sensibilidad de 72%, especificidad de 49% y un área bajo la curva 0.717. El porcentaje de Linfocitos tiene una sensibilidad de 70%, especificidad de 47% y un área bajo la curva de 0.702. Finalmente, el biomarcador que presento los valores estadísticos más altos fue el recuento de plaquetas con una sensibilidad de 88%, especificidad de 70% y un área bajo la curva de 0.866. El calcio sérico presento una sensibilidad de 65%, especificidad 49% y un área bajo la curva de 0.625. Las proteínas totales en sangre con una sensibilidad 67%, especificidad 56% y un área bajo la curva de 0.675. Estos valores estadísticos permiten tener presente su disminución (Proteínas totales, Calcio total, plaquetas, linfocitos y glóbulos blancos) o aumento (VCM y neutrófilos) tomando como referencia el punto de corte de cada uno de estos parámetros de laboratorio en el diagnóstico precoz de dengue.

6. Discusión de 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, 43 eran positivos para dengue y 45 eran febriles por otras causas, se confirmó el diagnóstico mediante biología molecular por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), además estos 43 fueron tipificados como DENV-4. Existen muchos estudios en los cuales se describen los signos y síntomas más frecuentes y estos relacionan los parámetros clínicos y de laboratorio en los casos y no casos de dengue.

Con relación a las características socio-epidemiológicas la edad promedio en los controles fue de 21 años y en los controles de 23 años, en los casos de dengue la mayoría eran hombres (65%). Se relacionaron las variables sexo y edad con cada uno de los síntomas y biomarcadores de manera individual para ver si había asociación estadística, ninguno de estos parámetros mostro una relación con el sexo o la edad, por tanto, se puede concluir que la frecuencia de los síntomas y los valores de los biomarcadores en esta población no están relacionados con estas variables.

En este estudio, los síntomas más frecuentes en personas con dengue fueron: escalofríos, dolor de cabeza, dolor articular, dolor muscular, el rash y epistaxis. Estos resultados concuerdan con las directrices de la OMS/OPS que describen el cuadro clínico de los pacientes con esta infección vírica.(75)(76)(86)

La correlación de síntomas mostró patrones particulares asociados con la positividad de dengue durante este brote; el rash ($p=0.009$) o erupción cutánea es un signo común en dengue y se incluye en las directrices para esta infección viral publicadas por la OMS de 1997 y 2009, el dolor retroorbitario ($p=0.045$) también mostro probabilidades de positividad para dengue los cual concuerda con la definición de caso de la OMS. (15)

En un estudio realizado en Burkina Faso durante un brote de dengue para el año 2016 también se encontró que, la erupción ($p=0.002$) y el dolor retroorbital ($p= <0.001$) eran síntomas comunes y muy relacionados a la positividad por dengue. Aunque en este estudio el dolor retroorbital mostró una mayor correlación probablemente se deba a que en este estudio se analizó una mayor cantidad de casos positivos ($n= 540$). Los datos de este estudio tenían un menor número de casos ($n=43$), pero muestran que el dolor retroorbital y el rash, son síntomas muy frecuentes en la infección por dengue y hay que tenerlos en cuenta a la hora del diagnóstico clínico diferencial.(87)

Los síntomas en los que se presenta sangrado, son representativos de los casos de dengue y de la gravedad de este, por tanto, es importante la observación de estos signos y síntomas.(88) En nuestro estudio se encontró que la epistaxis es un signo relacionado con la positividad por Dengue ($p= 0.009$), éste no se presentó en ninguno de los pacientes que dieron negativos para dengue (controles). Los resultados concuerdan con un estudio realizado en Tailandia entre el año 2011 a 2016 en el cual destaca que la hematemesis y el sangrado de encías, entre otras hemorragias tienen mayor probabilidad de presentarse en dengue confirmado.(89) No fue posible relacionar estos síntomas como predictores de gravedad debido a que solo 2 de los pacientes fueron clasificados como dengue con signos de alarma y ninguno de estos presentó complicaciones de dengue grave (DHF o SSD), esto probablemente por la detección temprana y el buen manejo de estos casos por el sistema de salud.

Con relación a síntomas respiratorios como rinorrea o goteo nasal, tos seca y tos productiva, en este estudio demostraron una correlación significativa ($p=<0.001$), porque estos son más frecuentes en pacientes negativos para dengue (controles), por tanto, estos síntomas pueden relacionarse a otras enfermedades febriles que circulan y son prevalentes en nuestra comunidad como Covid-19 o Influenza.

Es de interés mencionar un estudio realizado en Puerto Rico donde se comparó el perfil clínico de Covid-19 y dengue, la presencia de síntomas respiratorios tanto superiores como inferiores (p. ej., tos, dificultad para respirar) favoreció un diagnóstico de laboratorio de Covid-19, como se esperaría de un virus que infecta principalmente el tracto respiratorio. Numerosas molestias musculoesqueléticas características de la “fiebre rompeshuesos” (dengue) y molestias sistémicas como escalofríos o náuseas favorecieron al dengue, esto también es comparable con los resultados de este estudio donde el dolor muscular y articular presentó una frecuencia del 67% y 63% respectivamente, los escalofríos un 86%. Las náuseas o vómitos tuvieron una frecuencia baja del 16% esto debido a que estos últimos síntomas se asocian al desarrollo de dengue con signos de alarma y sus complicaciones, en este estudio ninguno de los pacientes desarrollo estas presentaciones clínicas.(90)

El enrojecimiento facial se considera un marcador sensible y específico de la enfermedad por dengue. En este estudio se encontró una asociación muy fuerte entre el rash y los casos de dengue ($p=0.009$), el estudio anteriormente mencionado afirma que este signo clínico se presentó en aproximadamente la mitad de los casos de dengue.(90) Estos resultados podrían respaldar el diagnóstico de dengue si se solicitara regularmente durante la entrevista al paciente.

Además de estos síntomas, este estudio informó que los casos confirmados de dengue tenían más probabilidades de presentar una temperatura corporal más alta $\geq 38,7$ °C ($p=0.003$) al momento del reclutamiento que los pacientes sin dengue (controles), esto concuerda con el estudio realizado por Kyungah Lim y col, donde demostraron que los casos de dengue tenían una temperatura corporal $\geq 38,3$ °C, en comparación con los casos negativos para dengue.(89,91)

Los hallazgos clínicos en los casos de dengue en nuestra población según los hallazgos encontrados en este estudio son comparables a los encontrados por Megan E. Reller

también en la población nicaragüense en el año 2016, donde aquellos con dengue agudo tenían características clínicas similares a aquellos con otras enfermedades febriles agudas. Los únicos síntomas y signos asociados independientemente con dengue agudo vs. otras enfermedades febriles agudas fueron presencia de dolor en las articulaciones y un exantema petequiral, que fue poco común, y ausencia de linfadenopatía. El dolor abdominal, la hepatomegalia, la ictericia, el letargo y la trombocitopenia con hemoconcentración fueron raros, lo que es consistente con el dengue sin signos de alarma.(92)

Aunque algunos de estas variables no se analizaron, la prevalencia de dengue sin signos de alarma en los casos confirmados de dengue en este estudio es determinante para

En la infección por dengue, determinar precozmente cuál será la futura evolución del enfermo es un reto y es con la ayuda del Laboratorio Clínico que se pueden proponer marcadores que hagan posible una identificación temprana de esta infección viral. Desde los primeros momentos de la aparición de los síntomas es muy importante la realización de análisis seriados y evolutivos; la identificación de los datos de laboratorio resulta indispensable para el abordaje más eficiente de esta problemática y para definir los momentos iniciales de la enfermedad.

Los parámetros hematológicos que se asociaron con positividad para dengue en este estudio fueron los siguientes: Volumen corpuscular medio, recuento de plaquetas, recuento de glóbulos blancos, porcentaje de linfocitos y neutrófilos.

En otros estudios mencionan que el parámetro hematológico más asociado a dengue es un recuento bajo de plaquetas $<150,000 \text{ mm}^3$ (Trombocitopenia), tiene mucha importancia en esta enfermedad y altera alguna de las pruebas de la hemostasia como la prueba del lazo (que se hace positiva) y los tiempos de coagulación (TP y TPT), estos marcadores pueden analizarse en futuros estudios para valorar el perfil de la hemostasia en casos de dengue. La media de plaquetas en este estudio fue de $145,002 \text{ mm}^3$ en los

casos y $202,475 \text{ mm}^3$ en los controles, el descenso de plaquetas en los casos mostro una fuerte asociación ($p= <0.001$) como predictor en la fase aguda de esta infección viral, lo que concuerda con otros estudios. En un estudio realizado en nicaragua también demostró que las plaquetas muestran una asociación como factor predictor ($p=0.03$), una media en los casos de $230,000 \text{ mm}^3$ y $274,000 \text{ mm}^3$ en los controles.(93–95)

Otros marcadores que desempeña un papel importante en la enfermedad son la hemoglobina y el hematocrito. Está claro que si el paciente sangra abundantemente disminuyen la hemoglobina y el hematocrito, pero en el caso del hematocrito no se comporta así pues esta variable resulta de alarma al incrementarse; en los pacientes complicados se produce el cambio fisiopatológico principal que determina la gravedad de la enfermedad en el dengue hemorrágico y lo que lo distingue del dengue clásico, es el fenómeno de la extravasación de plasma, puesta de manifiesto por un incremento del hematocrito y una hemoconcentración ascendente. En este estudio el hematocrito y la hemoglobina no mostro diferencias significativas entre los casos y controles esto debido a que ninguno de los casos avanzo a dengue grave por tanto es poco probable que estos marcadores sufran alteraciones. En un estudio para valorar biomarcadores predictores de gravedad el hematocrito y la hemoglobina pueden ser buenos candidatos.(94)

Los leucocitos, en su conteo global, se comportan con una disminución (leucopenia); la disminución de leucocitos totales comienza en los tres primeros días y es ligera y, a los cinco días de la enfermedad, está presente en la mayoría de los pacientes; en las formas más graves de la dolencia la leucopenia es mucho más intensa y marcada.(94,96) En un estudio realizado por Y. Miranda y P. Montero para el año 2021, encontraron que los pacientes con dengue presentaban alteraciones en el recuento leucocitario siendo la leucopenia, la más prevalente con 68% en mujeres y 58% en hombres.(93) Este estudio en el conteo de glóbulos blancos presento una media más baja ($5,500 \text{ mm}^3$) que los

controles (6,900 mm³), estos datos sugieren que la leucopenia es significativa ($p=0.011$) en los casos positivos de dengue.

El porcentaje de linfocitos y neutrófilos en este estudio mostro una fuerte asociación en los casos positivos de dengue ($p<0,001$), el comportamiento de estos parámetros fue un aumento de neutrófilos en los casos en comparación con los controles y una disminución de linfocitos, estos hallazgos concuerdan con otros estudios donde se observa generalmente una disminución de linfocitos (Linfopenia) en la enfermedad temprana.(97,98)

El diagnóstico temprano de dengue sigo siendo una problemática de salud y más aún cuando el signo clínico y de alerta en la etapa aguda de la enfermedad es la fiebre y esta puede estar presente en muchas otras enfermedades de etiología diversa, por tanto, es de especial interés la evaluación de marcadores tempranos que nos permitan distinguir entre fiebre por dengue y otras enfermedades febriles agudas.

En este estudio a través de un análisis de curvas ROC se evaluó la capacidad diagnostica de 12 marcadores clásicos que generalmente se envían en la evaluación rutinaria de cualquier paciente que ingresa a una unidad de salud, 7 presentaron un área bajo la curva (ABC) >0.6 y una sensibilidad diagnostica $>60\%$.

En un estudio realizado en Colombia se evaluó la capacidad discriminatoria de un modelo en conjunto que incluía leucopenia, el exantema y el mareo el cual presento un $ABC=0.81$, sensibilidad= 61% y especificidad= 88%.(14) En este estudio se evaluó de manera individual el conteo de glóbulos blancos, presento un $ABC= 0.658$, sensibilidad= 65% y especificidad= 55%, además el porcentaje de linfocitos y neutrófilos presentaron una sensibilidad del 70% y 72% respectivamente. Un modelo combinado de estos 3 marcadores puede ser una herramienta útil para el diagnóstico temprano de dengue, utilizando los puntos de corte de estos parámetros mostrados en la tabla 4.

En este estudio el recuento plaquetas mostraron ser el mejor biomarcador para predecir infección por dengue con un punto de corte $<175,500 \text{ mm}^3$ presenta una sensibilidad de 88% y especificidad de 70% en el diagnóstico de dengue. En un estudio realizado por F. Alexander Diaz; destacó que los recuentos de plaquetas y leucocitos (entre las 48 y las 96 primeras horas de enfermedad) fueron significativamente menores en los pacientes con dengue que en aquellos con síndrome febril agudo de otra etiología. Para las plaquetas en este estudio asumieron un punto de corte de $180.000/\text{mm}^3$, valor intermedio entre las medias de ambos grupos que mostró la más fuerte asociación con la infección por dengue ($p < 0,0001$). Para los leucocitos se escogió un valor inferior o igual a $4.000/\text{mm}^3$, que permite identificar a los pacientes con dengue con una sensibilidad de 73,6% y una especificidad de 71,4%.(12)

7. Conclusiones

- En cuanto a las características socioepidemiológicas de la población en estudio, predominó el sexo masculino (65%) en los casos y (66%) en controles. El 88.0% de los casos pertenecían al área urbana, el 74% tenía un nivel de educación primaria y el 67% eran estudiantes al momento del estudio, la edad promedio fue de 21.0 con una desviación estándar de 12.9 en los casos de dengue.
- Los casos confirmados de dengue se asociaron significativamente con mayores probabilidades de presentar erupción cutánea o rash, dolor de cabeza, epistaxis, dolor retroorbital y dolor articular, mientras que los pacientes confirmados de dengue se asociaron significativamente con menores probabilidades de presentar rinorrea, tos seca y tos productiva, en comparación con los pacientes sin dengue.
- Los biomarcadores hematológicos y bioquímicos que mostraron diferencias significativas de los casos y los controles son: recuento de glóbulos blancos (p 0.011), recuento de plaquetas (p <0.001), VCM (p 0.021), porcentaje de linfocitos (p 0.001), porcentaje de neutrófilos (p <0.001) y proteínas totales (p 0.011).
- Se evaluó la capacidad diagnóstica de 12 marcadores clásicos que generalmente se envían en la evaluación rutinaria de cualquier paciente que ingresa a una unidad de salud, el mejor predictor de dengue fue el recuento de plaquetas con una sensibilidad (88%), especificidad (70%) tomando como referencia un valor de corte <175,500 mm³. El porcentaje de neutrófilos y linfocitos presentó una sensibilidad igual o mayor al 70%.
- Estos resultados sugieren que los síntomas clínicos y biomarcadores clásicos del huésped pueden ser útiles para diferenciar entre el dengue y otras enfermedades clínicamente similares, pero de diferente etiología.

8. Recomendaciones

- Reconocer en todo momento los criterios clínicos para la sospecha o diagnóstico de las diferentes formas clínicas del dengue y en casos de considerar el manejo ambulatorio educar a los padres para acudir por cualquier signo o síntoma de alarma.

- Considerar en todo momento la monitorización continua parámetros bioquímicos y hematológicos en los pacientes con fiebre por sospecha de dengue es una estrategia eficaz para la detección temprana.

- Considerar en los pacientes febriles los valores de plaquetas $<175,500 \text{ mm}^3$, el porcentaje de neutrófilos $>53.5\%$, de linfocitos <43.5 , recuento de glóbulos blancos $<6,650 \text{ mm}^3$, proteínas totales $<7.95 \text{ gr/dl}$ y calcio total $<10.05 \text{ mg/dl}$ para el diagnóstico de dengue en la etapa aguda de la infección.

- Impulsar y mejorar las capacitaciones tanto a nivel hospitalario como en los centros de salud y comunidades para actualizar, informar, reforzar los conocimientos en base a esta enfermedad y actualizar los métodos innovadores y más recientes en el diagnóstico temprano del dengue.

- Para aumentar la sensibilidad y especificidad de estos biomarcadores como herramientas de diagnóstico temprano se recomienda combinarlos con otros biomarcadores y síntomas clínicos que estén presentes en los casos de dengue, creando así modelos combinados que permitan una mejor capacidad discriminatoria.

- El estudio de otros biomarcadores inmunológicos, hematológicos y bioquímicos del huésped pueden ser de utilidad para diferenciar precozmente entre el dengue y otras enfermedades clínicamente similares.

9. Referencias

1. Cabrera M, Taylor G. Modelling spatio-temporal data of dengue fever using generalized additive mixed models. *Spat Spatio-Temporal Epidemiol.* 2019 Feb;28:1–13.
2. Castrillón JC, Castaño JC, Urcuqui S. Dengue en Colombia: diez años de evolución. *Rev Chil Infectol.* 2015 Apr;32(2):142–9.
3. Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science.* 1988 Jan 29;239(4839):476–81.
4. Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007 Sep;30(5–6):329–40.
5. Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletnev SV, Corver J, Lenches E, et al. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell.* 2002 Mar 8;108(5):717–25.
6. Roy SK, Bhattacharjee S. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology. *Can J Microbiol.* 2021 Oct;67(10):687–702.
7. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2023 [cited 2023 Sep 20]. Dengue Clinical Presentation | CDC. Available from: <https://www.cdc.gov/dengue/healthcare-providers/clinical-presentation.html>
8. Rothman AL, Ennis FA. Immunopathogenesis of Dengue hemorrhagic fever. *Virology.* 1999 Apr 25;257(1):1–6.
9. Iqbal N, Islam M. Machine learning for dengue outbreak prediction: An outlook. *Int J Adv Res Comput Sci.* 2017 Feb 20;8:93–102.
10. Duong V, Lambrechts L, Paul RE, Ly S, Lay RS, Long KC, et al. Asymptomatic humans transmit dengue virus to mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Nov 24;112(47):14688–93.
11. OPS. Alerta Epidemiológica Aumento de casos de en América Central y el Caribe. *Organ Panam Salud.* 2023;Edición 2023:5.
12. Díaz FA, Martínez RA, Villar LA. Criterios clínicos para diagnosticar el dengue en los primeros días de enfermedad. *Biomédica.* 2006 Mar;26(1):22–30.

13. Le Turnier P, Bonifay T, Mosnier E, Schaub R, Jolivet A, Demar M, et al. Usefulness of C-Reactive Protein in Differentiating Acute Leptospirosis and Dengue Fever in French Guiana. *Open Forum Infect Dis*. 2019 Jul 8;6(9):ofz323.
14. 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*. 2014 Dec;14(1):35.
15. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control; 2009 - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2009 [cited 2024 Jul 2]. Available from: <https://www.paho.org/es/documentos/dengue-guias-para-diagnostico-tratamiento-prevencion-control-2009>
16. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013 Apr 25;496(7446):504–7.
17. Hotez PJ, Fenwick A, Savioli L, Molyneux DH. Rescuing the bottom billion through control of neglected tropical diseases. *Lancet Lond Engl*. 2009 May 2;373(9674):1570–5.
18. Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Stanaway JD. The global economic burden of dengue: a systematic analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016 Aug;16(8):935–41.
19. Li Y, Wu S. Dengue: what it is and why there is more. *Sci Bull*. 2015 Apr;60(7):661–4.
20. Wu W, Bai Z, Zhou H, Tu Z, Fang M, Tang B, et al. Molecular epidemiology of dengue viruses in southern China from 1978 to 2006. *Virology*. 2011 Jun 26;8:322.
21. An account of the bilious remitting yellow fever, as it appeared in the city of Philadelphia, in the year 1793 - Digital Collections - National Library of Medicine [Internet]. [cited 2023 Sep 21]. Available from: <https://collections.nlm.nih.gov/catalog/nlm:nlmuid-2569009R-bk>
22. Epidemiological Alerts and Updates - PAHO/WHO | Pan American Health Organization [Internet]. [cited 2023 Sep 21]. Available from: <https://www.paho.org/en/epidemiological-alerts-and-updates>
23. Amarasinghe A, Kuritsk JN, Letson GW, Margolis HS. Dengue virus infection in Africa. *Emerg Infect Dis*. 2011 Aug;17(8):1349–54.

24. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* 1998 Jul;11(3):480–96.
25. Scientific Working Group on Dengue. Meeting (2006: Geneva S, Diseases UBSP for R and T in T. Report of the Scientific Working Group meeting on Dengue, Geneva, 1-5 October 2006. Report on dengue [Internet]. 2007 [cited 2023 Sep 21]; Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/69787>
26. Ooi EE, Gubler DJ. Dengue in Southeast Asia: epidemiological characteristics and strategic challenges in disease prevention. *Cad Saude Publica.* 2009;25 Suppl 1:S115-124.
27. Guzman M. Dengue en Nicaragua, 1994 reintroducción del serotipo 3 en las Américas. Available from: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/16453/v121n2p102.pdf?sequence=1>
28. Hammond SN, Balmaseda A, Pérez L, Tellez Y, Saborío SI, Mercado JC, et al. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a 3-year hospital-based study in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg.* 2005 Dec;73(6):1063–70.
29. Balmaseda A, Hammond SN, Tellez Y, Imhoff L, Rodriguez Y, Saborío SI, et al. High seroprevalence of antibodies against dengue virus in a prospective study of schoolchildren in Managua, Nicaragua. *Trop Med Int Health TM IH.* 2006 Jun;11(6):935–42.
30. Balmaseda A, Standish K, Mercado JC, Matute JC, Tellez Y, Saborío S, et al. Trends in patterns of dengue transmission over 4 years in a pediatric cohort study in Nicaragua. *J Infect Dis.* 2010 Jan 1;201(1):5–14.
31. Harris E, Videa E, Pérez L, Sandoval E, Téllez Y, Pérez ML, et al. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;63(1–2):5–11.
32. Kouri G, Valdéz M, Arguello L, Guzmán MG, Valdés L, Soler M, et al. [Dengue epidemic in Nicaragua, 1985]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1991;33(5):365–71.
33. Zambrana JV, Bustos Carrillo F, Burger-Calderon R, Collado D, Sanchez N, Ojeda S, et al. Seroprevalence, risk factor, and spatial analyses of Zika virus infection after the 2016 epidemic in Managua, Nicaragua. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018 Sep 11;115(37):9294–9.

34. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Dengue type 3 infection--Nicaragua and Panama, October-November 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1995 Jan 20;44(2):21–4.
35. Wang C, Saborio S, Gresh L, Eswarappa M, Wu D, Fire A, et al. Chikungunya Virus Sequences Across the First Epidemic in Nicaragua, 2014-2015. *Am J Trop Med Hyg*. 2016 Feb;94(2):400–3.
36. Edgerton SV, Thongsripong P, Wang C, Montaya M, Balmaseda A, Harris E, et al. Evolution and epidemiologic dynamics of dengue virus in Nicaragua during the emergence of chikungunya and Zika viruses. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis*. 2021 Aug;92:104680.
37. OhAinle M, Balmaseda A, Macalalad AR, Tellez Y, Zody MC, Saborío S, et al. Dynamics of dengue disease severity determined by the interplay between viral genetics and serotype-specific immunity. *Sci Transl Med*. 2011 Dec 21;3(114):114ra128.
38. Balmaseda A, Sandoval E, Pérez L, Gutiérrez CM, Harris E. Application of molecular typing techniques in the 1998 dengue epidemic in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg*. 1999 Dec;61(6):893–7.
39. Quiner CA, Parameswaran P, Ciota AT, Ehrbar DJ, Dodson BL, Schlesinger S, et al. Increased replicative fitness of a dengue virus 2 clade in native mosquitoes: potential contribution to a clade replacement event in Nicaragua. *J Virol*. 2014 Nov;88(22):13125–34.
40. Perera R, Kuhn RJ. Structural proteomics of dengue virus. *Curr Opin Microbiol*. 2008 Aug;11(4):369–77.
41. Bhatnagar P, Sreekanth GP, Murali-Krishna K, Chandele A, Sitaraman R. Dengue Virus Non-Structural Protein 5 as a Versatile, Multi-Functional Effector in Host–Pathogen Interactions. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Mar 18;11:574067.
42. Bhatt P, Sabeena SP, Varma M, Arunkumar G. Current Understanding of the Pathogenesis of Dengue Virus Infection. *Curr Microbiol*. 2021 Jan;78(1):17–32.
43. St John AL, Rathore APS. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. *Nat Rev Immunol*. 2019 Apr;19(4):218–30.

44. Rivino L, Kumaran EAP, Jovanovic V, Nadua K, Teo EW, Pang SW, et al. Differential targeting of viral components by CD4+ versus CD8+ T lymphocytes in dengue virus infection. *J Virol*. 2013 Mar;87(5):2693–706.
45. Weiskopf D, Angelo MA, de Azeredo EL, Sidney J, Greenbaum JA, Fernando AN, et al. Comprehensive analysis of dengue virus-specific responses supports an HLA-linked protective role for CD8+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 May 28;110(22):E2046-2053.
46. Rivino L, Lim MQ. CD4+ and CD8+ T-cell immunity to Dengue - lessons for the study of Zika virus. *Immunology*. 2017 Feb;150(2):146–54.
47. Tian Y, Grifoni A, Sette A, Weiskopf D. Human T Cell Response to Dengue Virus Infection. *Front Immunol*. 2019;10:2125.
48. Wahala WMPB, Huang C, Butrapet S, White LJ, de Silva AM. Recombinant dengue type 2 viruses with altered e protein domain III epitopes are efficiently neutralized by human immune sera. *J Virol*. 2012 Apr;86(7):4019–23.
49. Guzman MG, Vazquez S. The complexity of antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. *Viruses*. 2010 Dec;2(12):2649–62.
50. Katzelnick LC, Gresh L, Halloran ME, Mercado JC, Kuan G, Gordon A, et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans. *Science*. 2017 Nov 17;358(6365):929–32.
51. Narayan R, Tripathi S. Intrinsic ADE: The Dark Side of Antibody Dependent Enhancement During Dengue Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:580096.
52. Bournazos S, Gupta A, Ravetch JV. The role of IgG Fc receptors in antibody-dependent enhancement. *Nat Rev Immunol*. 2020 Oct;20(10):633–43.
53. Izquierdo JH, Bonilla-Abadía F, Cañas CA, Tobón GJ. Calcio, canales, señalización intracelular y autoinmunidad. *Reumatol Clínica*. 2014 Jan;10(1):43–7.
54. Berna-Erro A, Woodard GE, Rosado JA. Orais and STIMs: physiological mechanisms and disease. *J Cell Mol Med*. 2012;16(3):407–24.
55. Luik RM, Wu MM, Buchanan J, Lewis RS. The elementary unit of store-operated Ca²⁺ entry: local activation of CRAC channels by STIM1 at ER–plasma membrane junctions. *J Cell Biol*. 2006 Sep 11;174(6):815–25.

56. Schulze-Luehrmann J, Ghosh S. Antigen-Receptor Signaling to Nuclear Factor κ B. *Immunity*. 2006 Nov 1;25(5):701–15.
57. Macian F. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol*. 2005 Jun;5(6):472–84.
58. Cullen PJ, Lockyer PJ. Integration of calcium and RAS signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002 May;3(5):339–48.
59. Sitprija V. Altered fluid, electrolyte and mineral status in tropical disease, with an emphasis on malaria and leptospirosis. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008 Feb;4(2):91–101.
60. Bunnag T, Kalayanarooj S. Dengue shock syndrome at the emergency room of Queen Sirikit National Institute of Child Health, Bangkok, Thailand. *J Med Assoc Thai Chotmaihet Thangphaet*. 2011 Aug;94 Suppl 3:S57-63.
61. Kapoor S, Singh A. Hypocalcemic Tetany: An Infrequently Recognized Association with Acute Dengue Infection. *Indian J Pediatr*. 2012 Dec 1;79(12):1673–1673.
62. Zaloga GP, Chernow B. The multifactorial basis for hypocalcemia during sepsis. Studies of the parathyroid hormone-vitamin D axis. *Ann Intern Med*. 1987 Jul;107(1):36–41.
63. Bielefeldt-Ohmann H, Meyer M, Fitzpatrick DR, Mackenzie JS. Dengue virus binding to human leukocyte cell lines: receptor usage differs between cell types and virus strains. *Virus Res*. 2001 Jan;73(1):81–9.
64. Dhawan R, Chaturvedi UC, Khanna M, Mathur A, Tekwani BL, Pandey VC, et al. Obligatory role of Ca^{2+} in the cytotoxic activity of dengue virus-induced cytotoxin. *Int J Exp Pathol*. 1991 Feb;72(1):31–9.
65. Khanna M, Chaturvedi UC, Dhawan R, Tekwani BL, Pandey VC. Presence of Ca^{2+} is obligatory for the cytotoxic activity of dengue virus-induced cytotoxic factor. *Immunology*. 1991 Jan;72(1):73–8.
66. Chaturvedi P, Saxena V, Dhawan R, Chaturvedi UC. Role of calcium in induction of dengue virus-specific helper T cells. *Indian J Exp Biol*. 1995 Nov;33(11):809–15.
67. Khare M, Chaturvedi UC. Transmission of dengue virus-specific suppressor signal depends on the presence of calcium. *Indian J Med Res*. 1995 Jul;102:1–8.

68. Shivanthan M, Rajapakse S. Dengue and Calcium. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2014;4(4):314.
69. Authi KS. TRP channels in platelet function. *Handb Exp Pharmacol.* 2007;(179):425–43.
70. Colomer J, Means AR. Physiological roles of the Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase cascade in health and disease. *Subcell Biochem.* 2007;45:169–214.
71. Sánchez-Valdéz E, Delgado-Aradillas M, Torres-Martínez JA, Torres-Benítez JM. Clinical response in patients with dengue fever to oral calcium plus vitamin D administration: study of 5 cases. *Proc West Pharmacol Soc.* 2009;52:14–7.
72. Cabrera-Cortina JI, Sánchez-Valdéz E, Cedas-DeLezama D, Ramírez-González MD. Oral calcium administration attenuates thrombocytopenia in patients with dengue fever. Report of a pilot study. *Proc West Pharmacol Soc.* 2008;51:38–41.
73. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol [Internet].* 2018 Apr 13 [cited 2024 Jul 8];9. Available from:
<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2018.00754/full>
74. Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ-Sci B.* 2005 Nov 1;6(11):1045–56.
75. Teng YHF, Aquino RS, Park PW. Molecular functions of syndecan-1 in disease. *Matrix Biol.* 2012 Jan 1;31(1):3–16.
76. Kong DH, Kim YK, Kim MR, Jang JH, Lee S. Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. *Int J Mol Sci.* 2018 Apr;19(4):1057.
77. Bickel M. The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. *J Periodontol.* 1993 May;64(5 Suppl):456–60.
78. Dengue - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. [cited 2023 Sep 21]. Available from: <https://www.paho.org/es/temas/dengue>
79. Carvalho MS. DENGUE: TEORIAS E PRÁTICAS. *Cad Saúde Pública [Internet].* 2016 [cited 2023 Sep 21];32(4). Available from:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2016000401003&lng=pt&tlng=pt

80. Martínez-Torres E. Dengue y dengue hemorrágico: aspectos clínicos. *Salud Pública México* [Internet]. 1995 Jan 3 [cited 2023 Sep 21];37. Available from: <https://www.saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/4562>
81. Rigau-Pérez JG, Laufer MK. Dengue-related deaths in Puerto Rico, 1992-1996: diagnosis and clinical alarm signals. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2006 May 1;42(9):1241–6.
82. Ministerio de Salud. Guía para el manejo clínico del Dengue [Internet]. Managua, Nicaragua; 2018. Available from: <https://platform.who.int/docs/default-source/mca-documents/policy-documents/guideline/NIC-CH-59-02-GUIDELINE-2018-esp-N-147-GUIA-PARA-EL-MANEJO-CLINICO-DEL-DENGUE-2018.pdf>
83. Dotres Martínez C, Fallat Machado G, Rojo Concepción M, Aliño Santiago M, Martínez Torres E. Dengue hemorrágico en el niño. *Cad Saúde Pública*. 1987 Jun;3(2):158–80.
84. Diagrama. Clasificación modificada de la gravedad del dengue (JPG) - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2019 [cited 2024 Jul 4]. Available from: <https://www.paho.org/es/documentos/diagrama-clasificacion-modificada-gravedad-dengue-jpg>
85. García Alemán JW. Comportamiento clínico del Dengue y los factores de riesgo predictivos para sus formas graves en pacientes pediátricos manejados en el Hospital Alemán Nicaragüense, Managua. Enero 2018 a Diciembre 2019 [Internet] [other]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua; 2021 [cited 2024 Jun 27]. Available from: <https://repositorio.unan.edu.ni/15914/>
86. 9789275318904_esp.pdf [Internet]. [cited 2024 Jun 28]. Available from: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/28232/9789275318904_esp.pdf?sequence=1&isAllowed=y
87. Lim JK, Seydou Y, Carabali M, Barro A, Dahourou DL, Lee KS, et al. Clinical and epidemiologic characteristics associated with dengue during and outside the 2016 outbreak identified in health facility-based surveillance in Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Dec 6;13(12):e0007882.
88. Díaz-Quijano FA. Predictores de sangrado espontáneo en dengue: una revisión sistemática de la literatura. *Investig Clínica*. 2008 Mar;49(1):111–22.

89. Lim JK, Chanthavanich P, Limkittikul K, Lee JS, Sirivichayakul C, Lee KS, et al. Clinical and epidemiologic characteristics associated with dengue fever in 2011–2016 in Bang Phae district, Ratchaburi province, Thailand. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2021 Jun [cited 2024 Jul 2];15(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8244866/>
90. Wong JM, Volkman HR, Adams LE, Oliveras García C, Martínez-Quiñones A, Pérez-Padilla J, et al. Clinical Features of COVID-19, Dengue, and Influenza among Adults Presenting to Emergency Departments and Urgent Care Clinics—Puerto Rico, 2012–2021. *Am J Trop Med Hyg*. 2023 Jan;108(1):107–14.
91. Yoon IK, Srikiatkachorn A, Hermann L, Buddhari D, Scott TW, Jarman RG, et al. Characteristics of Mild Dengue Virus Infection in Thai Children. *Am J Trop Med Hyg*. 2013 Dec 12;89(6):1081.
92. Reller ME, de Silva AM, Miles JJ, Jadi RS, Broadwater A, Walker K, et al. Unsuspected Dengue as a Cause of Acute Febrile Illness in Children and Adults in Western Nicaragua. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Oct 28;10(10):e0005026.
93. IV_FCS_508_TE_Miranda_Montero_2021.pdf [Internet]. [cited 2024 Jul 3]. Available from: https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/9786/4/IV_FCS_508_TE_Miranda_Montero_2021.pdf
94. Chang CXM, Rodríguez LP de A, Pérez DM. Estudios hematológicos y bioquímicos de laboratorio en el dengue. *Acta Médica Cent*. 2013;7(3):78–83.
95. Reller ME, de Silva AM, Miles JJ, Jadi RS, Broadwater A, Walker K, et al. Unsuspected Dengue as a Cause of Acute Febrile Illness in Children and Adults in Western Nicaragua. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Oct 28;10(10):e0005026.
96. Wilson Salazar E. Dengue: hallazgos hematológicos y de imagen. *Rev Médica Sinerg*. 2018 Dec 1;3(12):8–12.
97. Verma S, Kanga A, Singh D, Verma GK, Mokta K, Ganju SA, et al. Emergence of travel: Associated dengue fever in a non-endemic, hilly state. *Adv Biomed Res*. 2014 Nov 29;3:239.
98. Srisuphanunt M, Puttaruk P, Kooltheat N, Katzenmeier G, Wilairatana P. Prognostic Indicators for the Early Prediction of Severe Dengue Infection: A Retrospective Study in a University Hospital in Thailand. *Trop Med Infect Dis*. 2022 Jul 31;7(8):162.

**“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”**

10. Anexos

INSTRUMENTO

1. Edad: _____

2. Sexo: Masculino_____ Femenino_____

3. Ocupación:

Desempleado_____ Ama de casa_____ Obrero industrial _____

Estudiante_____ Empresario_____ Discapacitado_____

Oficina/maestro/trabajador de la salud_____ Vendedor ambulante

_____ Empleada doméstica_____ Obrero agrícola_____ Artesano_____

Ejercicio profesional_____ Conductor_____ Pensionado_____

Conductor_____ No escuela_____ No trabaja_____ Otros:

4. Escolaridad:

Preescolar completo_____ Preescolar incompleto_____ Primaria incompleta_____

Primaria completa_____ Secundaria incompleta_____ Secundaria

completa_____ Universitario incompleto_____ Universitario completo_____

Analfabeto_____ Alfabeto_____

5. Síntomas en fase febril y fase en recuperación

Síntomas	Fase febril			Fase de recuperación		
	Si	No	No sabe	Si	No	No sabe
Fiebre						
Escalofrío						
Pérdida de peso						
Rinorrea						
Tos seca						
Tos productiva						

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Esputo sanguinolento						
Dolor de garganta						
Disnea						
Vómito						
Diarrea						
Dolor abdominal						
Dolor al orinar						
Disminución de la orina						
Dolor de cabeza						
Letargia						
Convulsiones						
Dolor articular						
Dolor muscular						
Rash						
Alergias						
Conjuntivitis						
Dolor retro orbital						
Dolor de oído						

6. Examen físico

Signos vitales	Fase febril	Fase de recuperación
Temperatura		
FR		
FC		
PA		
SaO2		
IMC		

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Nódulos	Fase febril		Fase de recuperación	
	Presente	Ausente	Presente	Ausente
Normal				
Cervical				
Axilar				
Inguinal				
Generalizado				
Otro				

Datos por sistema	Fase febril			Fase de recuperación		
	Si	No	N/E	Si	No	N/E
Inyección de conjuntiva						
Inflamación de la garganta						
Inflamación del oído						
Tórax						
Crepitantes						
Roncus						
Sibilancia						
Recesiones						
Gruñir						
Aleteo nasal						
Bilateral						
Unilateral						
Abdomen						
Hígado agrandado						

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

Datos por sistema	Fase febril			Fase de recuperación		
	Si	No	N/E	Si	No	N/E
Hígado doloroso						
Bazo agrandado						
Bazo doloroso						
Dolor abdominal difuso						
Sistema Nervioso						
Rigidez de nuca						
Fotofobia						
Alerta						
Confundido						
Somnolencia						
Coma						
Piel y articulaciones						
Rash						
Rash difuso						
Rash macular						
Rash papular						
Rash petequeial						
Rash otro						
Ictericia						
Pústula/abceso						
Equimosis						
Inflamación articular						
Escara						
Fragilidad capilar						

N/E: No examinado

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

7. Exámenes complementarios

Exámenes complementarios	Fase febril			Fase de recuperación		
	Normal	Anormal	No realizado	Normal	Anormal	No realizado
Radiografía de tórax						
Ultrasonido Abdominal						

8. Diagnóstico clínico por C/S

Infección por dengue___ Infección por gripe___ COVID 19___ Síndrome febril___

Zika___ Chikungunya___ Otra___

Dengue sospechoso sin signos de alarma_____

Dengue sospechoso con signos de alarma_____

Dengue sin signos de alarma_____

Dengue con signos de alarma_____

9. Diagnostico serológico Si_____ No_____ Tipificación del dengue: _____

Proteína C Reactiva: Cualitativo _____ Positivo _____ Negativo_____ Cuantitativo:

Dengue: NS1_____ IgM_____ IgG_____

10. Biomarcadores

Biomarcadores	Fase febril	Fase de recuperación
Hemoglobina		
Calcio		
Proteínas Totales		
Sodio		

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 este **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, 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 de este 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 o 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 o 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 o 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.
- 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:

“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”

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:

**“EVALUACIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS CLÁSICOS EN EL DIAGNÓSTICO
DIFERENCIAL POR DENGUE Y OTRAS ENFERMEDADES FEBRILES”**
