

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA
MAESTRÍA EN EPIDEMIOLOGÍA**



**TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE
MASTER EN EPIDEMIOLOGIA**

**MANIFESTACIONES CLÍNICAS TEMPRANAS DE DENGUE EN UNA
COHORTE PEDIÁTRICA EN EL DISTRITO II DE LA CIUDAD DE
MANAGUA EN EL PERÍODO SEPTIEMBRE 2004 – DICIEMBRE 2007**

Autor: Dr. Oscar Ortega

Tutor: Dr. Angel Balmaseda

**LEON, NICARAGUA
MARZO 2009**

INDICE

Introducción.....	01
Objetivos.....	04
Marco Teórico.....	05
Diseño Metodológico.....	21
Resultados.....	34
Discusión.....	39
Conclusiones.....	42
Recomendaciones.....	43
Anexos.....	44
Tablas y Gráficos.....	45
Carta de Consentimiento Informado.....	66
Guión de Asentimiento Informado.....	69
Bibliografía.....	70

Agradecimientos

Médicos del Estudio de Cohorte

Personal del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia del Ministerio de Salud

Participantes del Estudio de Cohorte Pediátrica de Dengue en Nicaragua

Introducción

El dengue es una infección originada por la picadura de los mosquitos que se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales de más de 100 países. Dos quintas partes de la población mundial están ahora en riesgo de contraer el dengue, y cada año aproximadamente ocurren 50 millones de casos en el mundo. La prevalencia global de infección por dengue ha incrementado dramáticamente en décadas recientes; particularmente en las Américas, el Pacífico Occidental y el Sureste Asiático. Hay cuatro virus serológicamente distintos que causan el dengue. La recuperación de una infección provee inmunidad de por vida contra el mismo serotipo, pero confiere inmunidad transitoria contra infecciones heterólogas, además, las infecciones secuenciales pueden incrementar el riesgo de una enfermedad más severa.

La infección por el virus dengue puede resultar en infección asintomática o en un espectro de enfermedad febril aguda que va desde el dengue clásico (usualmente acompañado por cefalea, mialgia, artralgia dolor retro-ocular, erupción cutánea), hasta el dengue hemorrágico- que incluye los síntomas del dengue clásico más filtración de plasma acompañado con signos hemorrágicos y trombocitopenia, el cual, sí no es tratado a tiempo puede conducir a la muerte.

El dengue se ha diseminado dramáticamente en Latinoamérica desde la década de 1980 y ha emergido como uno de los principales problemas de salud en Nicaragua. La primera epidemia de dengue en el país ocurrió en 1985, con 17,000 casos incluyendo 7 muertes, y fue atribuido a los serotipos 1 y 2. Posteriormente casos esporádicos fueron observados hasta 1990, cuando la introducción del serotipo 4 resultó en la notificación de más de 4,000 casos. Al final de 1994 y durante la temporada lluviosa de 1995, más de 20,000 casos de dengue fueron reportados;

causado principalmente por el serotipo 3. Durante los dos años siguientes la incidencia de dengue fue relativamente baja; sin embargo, el número de casos incrementó abruptamente a inicios de 1998 ⁽¹⁾. La transmisión del dengue 2 se incrementó en 1999 predominando hasta el año 2002, el serotipo 1 se convirtió posteriormente en el serotipo predominante en el año 2003 ⁽²⁾.

Un estudio de seroprevalencia de anticuerpos contra el virus dengue realizado entre el año 2001 – 2003 en Managua encontró que el 75% de los niños a los 4 años de edad había sido infectado por el virus, la seroprevalencia de anticuerpos incrementó al 100% a la edad de 16 años, lo cual demuestra alta transmisión del virus dengue en un área urbana de Nicaragua ⁽³⁾.

Varios factores pueden influenciar las manifestaciones clínicas y la severidad que las personas infectadas por dengue presentan. Estudios recientes han diferenciado hallazgos entre adultos, niños y lactantes ^(4,5,6), raza ⁽⁷⁾, estado nutricional⁽⁸⁾, respuesta inmune ⁽⁹⁾, serotipo del virus ^(2,10) titulación de la viremia ⁽¹⁰⁾, entre otros factores.

El conjunto de síntomas tempranos puede ser difícil de distinguir de otras enfermedades febriles de la infancia por lo que se han identificado nuevos signos y síntomas que ayuden a predecir infección sintomática por dengue ^(11,12,13), aunque éstos aún no forman parte de la actual definición de Dengue Clásico o Dengue Hemorrágico de la Organización Mundial de la Salud.

El presente estudio nos permitió identificar tempranamente síntomas, signos y parámetros de biometría hemática de infección por dengue debido a la captación de los casos en los primeros

días de la enfermedad. El hecho de que el estudio abarcase un amplio período posibilitó estudiar las manifestaciones clínicas de la enfermedad en períodos de alta y baja incidencia de la enfermedad durante el cual circularon varios serotipos del virus dengue. Adicionalmente, al haber tenido la mayoría de los casos manifestaciones leves y haber incluido casos con enfermedad febril indiferenciada favoreció la identificación de signos clínicos presentes en infección leve, constituyendo ésta última la mayor carga de infección sintomática por virus dengue.

Objetivo General

Identificar las manifestaciones clínicas tempranas de infección por virus Dengue en una Cohorte de niños de 2 – 12 años de edad que habitan en el área de cobertura del Centro de Salud Sócrates Flores Vivas en el período de Septiembre 2004 – Diciembre 2007.

Objetivos Específicos

1. Describir las características generales de los participantes en el estudio.
2. Identificar las manifestaciones clínicas tempranas y de laboratorio asociadas a infección por virus dengue.
3. Determinar modelo diagnóstico temprano de dengue pediátrico.

Marco Teórico

El virus dengue consiste en una banda de ARN encapsulada y pertenece a la familia de los Flavivirus. Los virus dengue comparten muchas características con otros miembros de la familia, ejemplo: Encefalitis Japonesa, Virus del Oeste del Nilo y Fiebre Amarilla. Existen 4 serotipos de virus dengue que están muy relacionados. La infección en humanos por un serotipo produce inmunidad de por vida contra la reinfección por el mismo serotipo, pero solamente protección temporal y parcial contra los otros serotipos ⁽¹⁴⁾.

Los 4 serotipos de dengue son capaces de causar Dengue Clásico o Dengue Hemorrágico, dependiendo del estado inmune y probablemente de la edad del huésped, debido a que el Dengue Hemorrágico ocurre casi exclusivamente en niños menores de 16 años en áreas endémicas de dengue y es asociado con infección secundaria por dengue. Sin embargo, el Dengue Hemorrágico y el Choque por Dengue pueden ocurrir en lactantes menores de un año de edad o en pacientes con infecciones por el serotipo 1 ó 3 ⁽¹⁴⁾.

El virus es transmitido de humano a humano por la picadura del mosquito *Aedes aegypti*. El virus es mantenido en los establecimientos urbanos a través de un ciclo de transmisión Hombre - Mosquito – Hombre. Las hembras *Aedes aegypti* se alimentan de la sangre humana y pican durante el día. Después de alimentarse de la sangre de una persona que contiene el virus dengue, el mosquito puede transmitir el virus después de un período de 8 – 12 días de período de incubación extrínseco. Además puede ocurrir la transmisión mecánica cuando la alimentación es interrumpida y el mosquito inmediatamente se alimenta de un huésped susceptible cercano. Una

vez infectado, el mosquito es infectante por el resto de su vida, que es aproximadamente 45 días⁽¹⁴⁾.

El mosquito *Aedes aegypti* es encontrado en las regiones tropicales y subtropicales, es el vector más eficiente del virus dengue por sus hábitos domésticos. El mosquito usualmente habita dentro del domicilio y deja sus huevos en contenedores artificiales hechos por el hombre, dentro y en los alrededores del hogar. Un factor que complica el control del vector es que los huevos del *Aedes aegypti* pueden resistir períodos largos de sequía, a veces por más de un año. El vector tiene un rango de vuelo corto de aproximadamente 50 – 100 metros, por lo que la transmisión del dengue a larga distancia es a través del movimiento de personas infectadas⁽¹⁴⁾.

Otras especies de mosquito son capaces de transmitir el virus dengue, incluyendo el *Aedes Albopictus*, larvas de dicha especie fueron identificadas en León en el año 2003⁽¹⁵⁾.

Los brotes de dengue clásico y dengue hemorrágico ocurren más frecuentemente en áreas donde las condiciones ambientales son óptimas para la transmisión del dengue, múltiples serotipos circulan simultáneamente o existen brotes secuenciales con diferentes serotipos. En estos lugares infección con serotipos heterotípicos son frecuentes⁽¹⁴⁾.

Manifestaciones Clínicas

Infecciones por el virus dengue pueden ser asintomáticas o manifestarse como fiebre indiferenciada, dengue clásico o dengue hemorrágico con filtración de plasma que puede conducir al choque por dengue⁽¹⁶⁾.

Dengue Clásico

Los hallazgos clínicos del dengue clásico frecuentemente dependen de la edad del paciente. Lactante y niños pequeños pueden tener enfermedad febril indiferenciada, usualmente con una erupción maculopapular. Niños mayores y adultos pueden tener también un síndrome febril leve o la enfermedad clásica discapacitante, con fiebre elevada de inicio brusco, dolor de cabeza severo, dolor retro-ocular, dolor muscular y óseo ó articular, náusea y vómito, y erupción. Hemorragias en la piel (petequias) no son infrecuentes. Usualmente se puede observar leucopenia y también se puede ver trombocitopenia ⁽¹⁶⁾.

En algunas epidemias, los casos de dengue clásico se pueden acompañar de complicaciones de sangrado como: epistaxis, gingivorragia, sangrado gastrointestinal, hematuria y menorragia. Sin embargo la tasa de mortalidad por dengue clásico es menor del 1%. Es importante diferenciar casos de dengue clásico manifestación hemorrágica inusual de los casos de dengue hemorrágico y choque por dengue, los que se caracterizan por la presencia de hemoconcentración y plaquetopenia ⁽¹⁶⁾.

Definición de Caso Probable de Dengue Clásico: enfermedad febril con dos o más de las siguientes manifestaciones:

- Dolor de cabeza
- Dolor retro-ocular
- Mialgia
- Artralgia/ Dolor óseo

- Erupción cutánea
- Manifestación hemorrágica
- Leucopenia
- Pruebas serológicas (titulación de anticuerpos por inhibición de la hemoaglutinación ≥ 1280 , ó IgM/IgG positivo por ELISA en una muestra convaleciente)
- Ocurre en la misma área que los casos confirmados de dengue ⁽¹⁶⁾.

Diversos signos continúan siendo estudiados para ayudar a diferenciar la infección por dengue de otras causas de enfermedad febril aguda en los niños. En un estudio de valoración inicial de niños con enfermedad febril aguda, el grupo con diagnóstico de dengue mostró una frecuencia significativamente mayor de eritema facial y una menor de tos y rinorrea ⁽¹⁷⁾.

Manifestaciones de la infección por dengue pueden variar en diferentes grupos etarios. Algunas manifestaciones clínicas fueron encontradas más frecuentemente en adultos que en niños, como: petequias, melena, dolor de cabeza, dolor retro-ocular, dolor articular, mialgia, náusea y vómito. Los signos encontrados más comúnmente en niños fueron epistaxis, oliguria y aumento de tamaño del hígado. Hemoconcentración, trombocitopenia, incremento de la alanina-aminotransferasa, y prolongación del tiempo de protrombina fueron significativamente mayores en adultos que en niños ⁽⁵⁾.

Otra investigación desarrollada en Tailandia encontró además entre sus hallazgos que el compromiso hepático severo fue más frecuente entre los adultos, mientras que en los niños tos y

hepatomegalia fueron significativamente más frecuentes. La presencia de prueba del torniquete positiva fue similar en ambos grupos ⁽¹⁸⁾.

Dengue Hemorrágico

Los casos típicos de dengue hemorrágico están caracterizados por 4 manifestaciones clínicas mayores: fiebre elevada, manifestaciones hemorrágicas, y usualmente, hepatomegalia y fallo circulatorio. Constituyen un hallazgo de laboratorio distintivo del dengue hemorrágico trombocitopenia moderado o marcada y hemoconcentración. El mayor hallazgo fisiopatológico que determina la severidad de la enfermedad en el dengue hemorrágico – y que lo diferencia del dengue clásico – es la filtración de plasma, manifestada por hematocrito elevado (hemoconcentración), efusión en las serosas o hipoproteinemia ⁽¹⁶⁾.

Los niños con dengue hemorrágico comúnmente se presentan con un incremento súbito en la temperatura acompañado por rubor facial y otros síntomas constitucionales no específicos parecidos al dengue clásico, como anorexia, vómito dolor de cabeza y dolor muscular y articular u óseo. Algunos pacientes aquejan dolor de garganta, y durante el examen físico es evidente inyección faríngea, pero son infrecuentes tos y rinitis. Se puede observar inyección conjuntival leve. Es común encontrar malestar epigástrico, sensibilidad en el reborde costal derecho, y dolor abdominal generalizado. La temperatura es usualmente alta (>39°C) y permanece así por un período de 2 – 7 días. Ocasionalmente la temperatura puede llegar hasta los 40-41 °C; pudiendo ocurrir convulsiones febriles, particularmente en lactantes ⁽¹⁶⁾.

Las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes son: prueba de torniquete positiva, gingivorragia y sangrado en los sitios de venopunción. Están presentes en la mayoría de los casos finas petequias distribuidas en las extremidades, axilas, cara y paladar blando; las que usualmente son vistas durante la fase febril temprana. Epistaxis y gingivorragia ocurren infrecuentemente; hemorragia gastrointestinal leve se puede observar durante el período febril (16).

El hígado es usualmente palpable en la fase febril temprana y varía en tamaño desde solamente palpable, hasta 2 – 4 cms. por debajo del reborde costal derecho. Aunque el tamaño del hígado no se correlaciona con la severidad de la enfermedad, es más frecuente observar hígado aumentado de tamaño en pacientes con choque que en los pacientes sin choque. No se observa usualmente ictericia. Esplenomegalia se observa raramente en los lactantes; sin embargo el bazo puede ser prominente mediante una radiografía (16).

La fase crítica de la enfermedad es alcanzada al final de la fase febril. Después de 2 – 7 días de fiebre, una rápida caída en la temperatura es acompañada por signos de falla circulatoria de severidad variable. El paciente puede presentar sudoración, estar inquieto, tener extremidades frías y mostrar algunos cambios en el pulso y en la presión arterial. En casos menos severos, estos cambios son mínimos y transitorios, reflejando un grado leve de filtración de plasma. Muchos pacientes se recuperan espontáneamente, o después de un período corto de terapia con líquidos y electrolitos. En los casos más severos, donde la pérdida de plasma es crítica. Se establece el choque y puede progresar rápidamente a un choque profundo y a la muerte si no es tratado oportunamente (16).

La severidad de la enfermedad puede ser modificada por diagnóstico temprano y reposición de la pérdida de plasma. Trombocitopenia y hemoconcentración son detectables usualmente antes de la finalización de la fiebre y el inicio del choque ⁽¹⁶⁾.

Definición de caso de dengue hemorrágico

Todo lo siguiente debe estar presente:

- Fiebre o historia de fiebre aguda, de 2 – 7 días de duración, ocasionalmente bifásica.
- Tendencias hemorrágicas, evidenciada por al menos uno de los siguiente signos:
 - Prueba del torniquete positivo
 - Petequias, equimosis o púrpura
 - Sangrado de mucosas, tracto gastrointestinal, sitios de inyección y otros lugares
 - Hematemesis o melena
- Trombocitopenia ($\leq 100,000$ células/mm³)
- Evidencia de filtración de plasma debido a incremento en la permeabilidad vascular, manifestada por al menos uno de los siguientes:
 - Incremento en el hematocrito igual o mayor al 20% del promedio para edad, sexo y población;
 - Una caída en el hematocrito seguido de una terapia de reemplazamiento de fluidos igual o mayor del 20% de la línea de base.
 - Signos de filtración de plasma como derrame pleural, ascitis e hipoproteïnemia ⁽¹⁶⁾.

Las manifestaciones del dengue hemorrágico también pueden variar de acuerdo al grupo etario. La prueba del torniquete positiva y leucopenia (leucocitos $< 5,000/\text{mm}^3$) fueron encontrados menos frecuente en los lactantes (50.2% y 26.8%) que en los niños mayores (92.2% y 71.9%). El compromiso y/o disfunción hepática fue encontrado más frecuentemente en los infantes, evidenciado por la elevación del promedio de aspartato aminotransferasa/alanino aminotransferasa (AST/ALT) y prolongación del tiempo de protrombina ⁽⁶⁾.

Graduación de la severidad del dengue hemorrágico

El dengue hemorrágico es clasificado en 4 grados de severidad, donde los grados III y IV son considerados como choque por dengue. La presencia de trombocitopenia con hemoconcentración diferencia los grados I y II del dengue hemorrágico del dengue clásico.

Grado I: Fiebre acompañado de síntomas constitucionales no específicos; la única manifestación hemorrágica es la presencia de prueba de torniquete positiva.

Grado II: Sangrado espontáneo además de las manifestaciones presentes en los pacientes con grado I, usualmente en las formas de hemorragias en la piel.

Grado III: Falla circulatoria manifestada por pulso rápido y débil, presión del pulso estrecha o hipotensión, con la presencia de extremidades frías e inquietud.

Grado IV: Choque profundo con pulso y presión arterial no detectables ⁽¹⁶⁾.

Las diferencias en las manifestaciones clínicas de severidad (choque, filtración de plasma, trombocitopenia marcada y hemorragia interna) han sido investigadas de acuerdo al grupo etario en lactantes niños y adultos. El 64%, 55% y 36% de los lactantes, niños y adultos,

respectivamente, mostraron una o más de las manifestaciones de severidad del dengue. Cuando se analizaron separadamente, el choque, filtración de plasma y trombocitopenia marcada fueron más prevalentes al ir decreciendo la edad; mientras que la hemorragia interna aumentó al ir incrementándose la edad. Hemorragia interna incrementó del 6.3% en los lactantes, al 9.4% en niños y a un 15.2% en adultos ⁽⁴⁾.

El estado nutricional obeso otro factor que ha sido asociado con la severidad de la enfermedad de acuerdo a datos de un estudio hospitalario con pacientes de dengue hemorrágico ⁽⁸⁾.

Manifestaciones clínicas de severidad pueden también estar en dependencia del serotipo circulante. Se han estudiado las distintas manifestaciones clínicas asociadas a Dengue 1 y Dengue 2 en diferentes períodos. Se observó que hemorragia interna (hemorragia gastrointestinal, hematuria y/o menorragia) y choque (hipotensión por edad y presión del pulso estrecha) predominaron significativamente en el período que circuló Dengue 2. En contraste, filtración de plasma (caracterizado por hemoconcentración, derrame pleural, y /o ascitis) fue más común en el período de dengue 1. Cuando el efecto de la respuesta inmune fue analizado en la presencia de manifestaciones clínicas severas en cada período de tiempo, infección secundaria resultó ser un mayor riesgo en el período de 1999 – 2001, en el que circuló predominantemente el serotipo 2; mientras que en el año 2003 no constituyó un factor asociado a mayor riesgo de manifestaciones severas en el que circuló el serotipo 1 ⁽²⁾.

Al ser analizadas individualmente las manifestaciones hemorrágicas, el período de circulación por el serotipo 2 se vio más asociado a hemorragia interna o de las mucosas (hematemesis,

melena, menorragia, sangrado de encías, y epistaxis) mientras que signos más leves como prueba del torniquete positivo y petequias, fueron significativamente asociadas con el período en el que circuló serotipo 1, lo cual es consistente con el hallazgo de asociación de filtración de plasma del serotipo 1. Otros signos adicionales, artralgia y dolor retro-ocular, estudiados resultaron asociados significativamente al período de circulación de Dengue 2 ⁽²⁾.

Síndrome de Choque por Dengue

La condición de los pacientes que progresan a choque se deteriora repentinamente después de 2 – 7 días de fiebre. Este deterioro ocurre en el momento en que la temperatura disminuye – entre el tercer y séptimo día de la enfermedad. Hay signos típicos de falla circulatoria: la piel se enfría, moteada y congestionada; se observa cianosis circumoral; y se acelera el pulso. Pacientes pueden estar letárgicos inicialmente, después están inquietos y entran rápidamente a un período crítico de choque. Dolor abdominal agudo es frecuente justo antes del inicio del choque ⁽¹⁶⁾.

Pacientes pueden entrar a un estado de choque profundo, donde la presión arterial y el pulso son imperceptibles. Sin embargo, la mayoría de los pacientes permanecen conscientes hasta el final del período. La duración del choque es corto: típicamente el paciente muere dentro de 12-24 horas, o se recupera rápidamente posterior a la terapia apropiada de reposición de líquidos. Derrame pleural y ascitis pueden ser detectados por examen físico o radiografía. Un choque no corregido puede llevar a un curso complicado, con el desarrollo de acidosis metabólica, hemorragia severa del tracto gastrointestinal y otros órganos, y un pronóstico pobre.

Encefalopatía, reportada ocasionalmente, puede ocurrir en asociación con disturbios metabólicos y electrolíticos o hemorragia intracraneal ⁽¹⁶⁾.

Definición de caso de Síndrome de Choque por Dengue

Se deben cumplir los cuatro criterios de dengue hemorrágico, más evidencia de falla circulatoria manifestado por:

- Pulso rápido y débil, y
- Presión del pulso estrecha (<20 mm. Hg.)

O manifestada por:

- Hipotensión por edad, y
- Piel fría e inquietud ⁽¹⁶⁾.

Hallazgos de laboratorio

Trombocitopenia y hemoconcentración son hallazgos constantes en el dengue hemorrágico. Una caída en el conteo de plaquetas por debajo de $100,000/\text{mm}^3$ se encuentra usualmente entre el tercer y octavo día de la enfermedad, usualmente antes o simultáneamente con cambios en el hematocrito. Un incremento en el nivel de hematocrito, indicando filtración de plasma está siempre presente, inclusive en los casos en que no hay choque, pero es más pronunciado en los casos de choque. Hemoconcentración con un incremento en el hematocrito de un 20% o mayor es considerado evidencia definitiva de incremento en la permeabilidad vascular y de filtración de plasma ⁽¹⁶⁾.

En los casos de dengue hemorrágico, el conteo de glóbulos blancos puede ser variable al inicio de la enfermedad, variando de leucopenia a una ligera leucocitosis, pero una caída en el número total de leucocitos debido a una reducción en el número de neutrófilos es observado siempre cerca del final de la fase febril de la enfermedad. Linfocitosis relativa es un hallazgo común antes de la defervescencia o el choque ⁽¹⁶⁾.

Con el objetivo de identificar hallazgos de laboratorio temprano en los primeros cuatro días de enfermedad para el diagnóstico del dengue en niños, que permitieran diferenciar entre dengue y otras causas de síndrome febril agudo fue conducido en Colombia un estudio que evaluó 125 niños entre las edades de 5 – 12 años de edad. Las pruebas de laboratorio mostraron que en los primeros días de enfermedad se observan en el dengue recuento de plaquetas y linfocitos significativamente inferiores. Fueron seleccionados como puntos de corte el valor igual o inferior a 4,500/ μ l. Para los leucocitos y a 180,000 / μ l para las plaquetas; los valores de p para ambos parámetros fue de 0.003 y 0.0485 para leucocitos y plaquetas respectivamente ⁽¹²⁾.

Se han establecido diferencias en los parámetros de laboratorio entre pacientes que cursan con dengue hemorrágico y dengue clásico. En Filipinas un estudio realizado en niños y adolescentes entre 2 – 17 años el conteo de glóbulos blancos de todos los sujetos fue generalmente más bajo de lo normal antes del período de defervescencia, pero aún así el conteo de glóbulos blancos fue mucho más alto en el grupo que presentó dengue hemorrágico que en el que fue diagnosticado con dengue clásico. Así mismo el porcentaje de linfocitos fue mucho mayor en el grupo que cursó con dengue hemorrágico que en el que fue diagnosticado con dengue clásico desde el día anterior de la defervescencia hasta dos días después. Los datos de laboratorio también

confirmaron que el conteo de plaquetas era significativamente menor en el grupo con dengue hemorrágico que en el grupo con dengue clásico desde tres días antes de la defervescencia hasta 5 días después. El hematocrito también fue significativamente más alto en el grupo de dengue hemorrágico dos días previos a la defervescencia. El incremento máximo en el hematocrito fue significativamente mayor en el grupo de dengue hemorrágico ($24.3 \pm 13.8\%$) que en el grupo de dengue clásico ($11.4 \pm 7.7\%$)⁽¹⁹⁾.

Dentro de los hallazgos hematológicos de un estudio realizado durante un brote de dengue en el año 2001 en un área endémica de Tailandia a niños y adultos se encontró que la media de hematocrito que presentaron los pacientes en admisión era de 38.9% y los pacientes con infección severa tenían niveles de hematocrito significativamente más altos que aquellos con dengue clásico (40.5% vs. 36.3%). Dentro de los subgrupos de infección severa no hubo diferencia significativa en la línea de base de hematocrito. En relación al conteo de plaquetas, los pacientes con dengue hemorrágico tenían una mediana significativamente más baja que aquellos con dengue clásico⁽¹⁸⁾.

Diagnóstico y diagnóstico diferencial

En las áreas endémicas de dengue, niños menores de 16 años están a mayor riesgo de dengue hemorrágico, y se debe prestar un alto índice de sospecha a los niños que presentan enfermedad febril aguda. Diagnóstico diferencial del dengue en la fase febril temprana incluye un espectro amplio de infecciones virales, bacterianas y parasitarias, ej.: fiebre tifoidea, otras fiebres hemorrágicas virales, malaria, leptospirosis. Gastritis viral, faringitis aguda, amigdalitis aguda

constituyen diagnósticos diferenciales en la fase febril temprana de los pacientes con dengue hemorrágico ⁽¹⁴⁾.

En un niño que presenta fiebre elevada de inicio abrupto por 1 – 2 días, el hallazgo de rubor facial sin coriza o cualquier otro síntoma del tracto respiratorio sugieren la posibilidad de infección por dengue. Una prueba de torniquete positiva (más de 10 petequias por 2.5 cm²) incrementa la probabilidad. La frecuencia de la prueba del torniquete incrementa del 50% en el primer día al 80% al final de la fase febril. Al progresar la enfermedad, aumento de tamaño del hígado provee más apoyo para el diagnóstico clínico de dengue hemorrágico. El diagnóstico es más certero cuando el número de plaquetas cae antes o simultáneamente con un incremento en el hematocrito ⁽¹⁴⁾.

Confirmación por laboratorio de las infecciones por dengue

a. Aislamiento viral: cuatro sistemas de aislamiento han sido usados rutinariamente para el aislamiento de virus dengue: inoculación intracerebral de ratón recién nacido, el uso de cultivos celulares de mamíferos (principalmente células LLC-MK₂), inoculación intratorácica de mosquitos adultos, y el uso de líneas celulares de mosquitos ⁽²⁰⁾. Los virus dengue pueden ser aislados de suero, plasma, y leucocitos en casi todos los pacientes febriles. Virus también pueden ser aislados en especímenes de tejidos post-mortem, por ejemplo: hígado, pulmones, bazo, ganglios linfáticos, timo, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural o ascítico ⁽¹⁶⁾.

La línea celular más ampliamente utilizada es la C6/C36 de *A. Albopictus*. El uso de líneas celulares ha proveído un método rápido, sensible y económico para el aislamiento viral. Muchos especímenes de suero pueden ser procesados fácilmente, por lo que es el método ideal para vigilancia virológica de rutina. Sin embargo, el sistema es menos sensible que la inoculación de mosquitos, aunque también la sensibilidad de la línea celular puede variar con la cepa del virus.

El método de elección para la identificación del virus es inmunofluorescencia indirecta (IFI) con anticuerpos monoclonales. Es simple y rentable y es el método más rápido. Más allá permite detectar múltiples virus en pacientes con infecciones concurrentes con más de un serotipo.

- b. Transcriptasa Inversa – Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR, por sus siglas en inglés):** para el dengue el RT-PCR provee un rápido diagnóstico específico para cada serotipo. El método es rápido, sensible, simple y reproducible si es controlado apropiadamente y puede ser usado para detectar ARN en muestras clínicas humanas, tejidos de autopsia, o mosquitos. Aunque el RT-PCR tiene similar sensibilidad al sistema de aislamiento viral que usa cultivos celulares C6/C36, el pobre manejo u almacenamiento y la presencia de anticuerpos usualmente no influencia el resultado a como lo hacen con el aislamiento viral ⁽²⁰⁾.

La aplicación de esta técnica molecular ha sido aplicada en nuestro país desde aproximadamente 10 años, proveyendo información importante para caracterizar la dinámica

de transmisión y para que las medidas de control puedan ser implementadas en un tiempo adecuado ⁽¹⁾.

- c. **ELISA – Inhibición:** es usado para diferenciar infecciones primarias y secundarias por dengue. La prueba es simple y fácil de realizar, pero no puede ser usada para identificar serotipo del virus. El diagnóstico serológico inequívoco depende en un incremento significativo (≥ 4 veces) en el título de anticuerpos específicos entre muestras de suero agudo y convaleciente ⁽²⁰⁾. La interpretación de resultados de esta técnica se encuentra descrito en Manual de Procedimientos del Ministerio de Salud ⁽²¹⁾.

Diseño Metodológico

Tipo de Estudio: Estudio de Cohorte, Prospectivo

Universo: Participantes que fueron diagnosticados como sospechosos de dengue en el período de Septiembre 2004 – Diciembre 2007.

Metodología:

Ingreso de los participantes:

Los Participantes fueron ingresados durante visitas casa a casa por equipos conformados por personal de enfermería del Centro de Salud Sócrates Flores Vivas (CSSFV). Los Padres/tutores de los participantes firmaron carta de Consentimiento Informado para ingresar al estudio, en ella se indicaba que participantes debían ser traídos al CSSFV cada vez que se enfermara, prestando atención especial de acudir en los primeros días de inicio de síntomas.

Captura de Casos Sospechosos de Dengue

Se realizó examen confirmatorio para virus dengue en los siguientes casos:

- Participantes que cumplieran con los criterios de Organización Mundial de la Salud de Dengue Clásico, Dengue Hemorrágico y/o Síndrome de Choque por Dengue.
- Participantes con síndrome febril indiferenciado.

A estos casos se les realizó toma de muestra inicial en la primera consulta y toma de muestra convaleciente entre los 14 – 21 días posteriores a la fecha de inicio de fiebre. En caso que participante no acudiera a cita convaleciente al Centro de Salud, personal de enfermería realizaba visita en el domicilio del participante para garantizar el espécimen. Durante la etapa aguda de la enfermedad participantes recibieron atención médica y aquellos casos que cursaron con signos de peligro y/o criterios de hospitalización fueron referidos a Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera "La Mascota".

Muestras para exámenes confirmatorios de dengue fueron tomadas en tubos al vacío y fueron conservadas en refrigeración entre 2 – 8 °C previo al envío al Laboratorio de Virología del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia.

Procesamiento de Biometrías Hemáticas Completas

Las muestras de BHC de la consulta inicial fueron procesadas en el laboratorio clínico del Centro de Salud en equipo hematológico automatizado. Durante el período de Septiembre 2004 – Junio 2006 fue utilizado el equipo marca MINDRAY, modelo BC-300 Plus, y durante el período Julio 2006 – Diciembre 2007 muestras fueron procesados en equipo marca SYSMEX, modelo KX-21N. Ambos equipos contaron con la introducción de controles comerciales y con los respectivos servicios de mantenimiento preventivo y correctivo.

Confirmación de los casos de Dengue:

Un caso confirmado de dengue es aquel que cumple con uno o más de los siguientes criterios:

- Identificación del serotipo del virus por aislamiento viral y/o
- Identificación del serotipo del virus por RT-PCR y/o
- Incremento ≥ 4 en el título de anticuerpos entre muestra inicial y convaleciente y/o
- Seroconversión de IgM entre muestra aguda y convaleciente.

Recolección de datos

Toma de temperatura corporal, medición de talla y masa corporal fue realizado por personal de enfermería y registrado en formato de hoja de consulta. Datos clínicos del estudio fueron registrados por personal médico en formatos diseñados. Cada consulta brindada fue supervisada para asegurar un llenado completo del formato y concordancia entre los datos clínicos. Posterior a la supervisión datos fueron introducidos en base de datos mediante el procedimiento de doble entrada de datos. Se realizó monitoreo periódico de la base de datos para asegurar que los datos introducidos correspondieron a los registrados en los formatos. Programa utilizado para base de datos es Microsoft Access. Se realizó respaldo electrónico de la información de hojas de consulta del estudio. Datos de BHC fueron transferidos de forma automática del equipo hematológico a base de datos ubicada en disco de red.

Análisis de los datos

Se utilizó el paquete estadístico STATA 9.2 (Stata Corp., Collage Station, TX). Estadística descriptiva fue usada para mostrar los datos generales de los participantes. Variables continuas fueron reemplazadas con equivalentes binarios. Se estableció la asociación entre los diferentes signos, síntomas clínicos y parámetros de laboratorio de acuerdo al valor de p del chi cuadrado. Análisis de regresión logística múltiple fue realizado utilizando aquellas variables que resultaron asociadas significativamente a casos positivos de dengue. El punto de corte utilizado para retener las variables en el modelo fue valor de $p < 0.05$. Para medir como el modelo predice infección sintomática por dengue fueron calculados los valores de sensibilidad y especificidad del modelo. Posteriormente fue realizada comparación entre el modelo resultante del análisis multivariado con la definición de dengue de la Organización Mundial de la Salud mediante evaluación de curvas características operador – receptor (ROC, por sus siglas en inglés). Para la realización de las tablas y gráficas fue utilizado Microsoft Excell 2003 y STATA 9.2.

Confidencialidad.

Personal del estudio en contacto directo con los niños tiene acceso a nombre del participante. Muestras enviadas a CNDR contienen un código único asignado a cada participante. Acceso a base de datos se encuentra restringido a personal del estudio.

Aspectos éticos.

El estudio de cohorte Pediátrica para la transmisión del Dengue en Nicaragua fue aprobado por el Comité Institucional de Revisión Ética (CIRE) del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia. Ingresaron al estudio solamente aquellos participantes cuyos padres/tutores firmaron el consentimiento informado. A los participantes mayores de 6 años les fue solicitado asentimiento verbal para su ingreso al estudio. Cada año en el mes de Julio se realizó el ingreso de entre 250 – 300 niños de 2 años de edad con el objetivo de garantizar el grupo de edad menor en la cohorte. Una vez concluido el período inicial del estudio (Septiembre 2004 – Junio 2007), se realizó nuevamente el proceso de solicitud de consentimiento informado a los padres de los participantes del estudio con el objetivo de tener autorización para el segundo período (Julio 2007 – Diciembre 2009) y de obtener el asentimiento verbal de los niños mayores de 6 años.

Aspectos financieros.

Fondos del estudio fueron aportados por la Iniciativa Pediátrica para una Vacuna Contra el Dengue (PDVI, por sus siglas en inglés).

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Definición Operativa	Indicador	Escala
Edad	Tiempo transcurrido desde fecha de nacimiento hasta fecha de primera consulta como caso sospechoso de dengue.	Expediente Clínico	Años
Sexo	Condición determinada por la presencia de genitales masculinos o femeninos	Expediente Clínico	Masculino Femenino
Temperatura	Estado de calor del cuerpo humano.	Expediente Clínico	Grados Centígrados
Presión Arterial	Presión ejercida por el volumen circulante de la sangre sobre las paredes de las arterias. Para su medición se utilizara esfigmómetro de mercurio.	Expediente Clínico	mm/Hg.
Fecha de inicio de fiebre	Fecha en que paciente inició aumento en la temperatura corporal.	Expediente Clínico	Día/Mes/Año
Fiebre	Aumento de la temperatura corporal. Síntoma referido o medición $\geq 38^{\circ}\text{C}$ al momento de la consulta médica	Expediente Clínico	Sí No

Astenia	Síntoma caracterizado por la falta o pérdida de energía.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Cefalea	Dolor de cabeza debido a múltiples causas referido como uno de los síntomas o motivos de consulta.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Inyección conjuntival	Signo clínico caracterizado por enrojecimiento observado en conjuntiva producido por la dilatación de vasos sanguíneos.	Expediente Clínico	Sí No
Hemorragia subconjuntival	Signo clínico caracterizado por presencia de pequeños acumulos por extravasación de sangre en conjuntiva ocular.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Dolor retro-ocular	Sensación dolorosa situada en región retro-orbital.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Eritema faríngeo	Signo caracterizado por enrojecimiento y/o inyección de	Expediente Clínico	Sí

	mucosa faríngea		No
Adenopatías cervicales	Signo clínico manifestado por la presencia de ganglios linfáticos aumentados de tamaño los cuales pueden estar sensibles a la palpación.	Expediente Clínico	Sí No
Dolor de garganta	Síntoma manifestado como la sensación de dolor o ardor espontáneo y/o al deglutir.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Exudado faríngeo	Presencia de secreción purulenta en faringe y/o amígdalas.	Expediente Clínico	Sí No
Tos	Síntoma caracterizado por la espiración explosiva y sonora de aire procedente de los pulmones.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Rinorrea	Secreción proveniente de las fosas nasales.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Congestión nasal	Obstrucción de las fosas nasales producida por la	Expediente Clínico	Sí

	presencia de secreción en su interior.		No Desconocido
Náuseas	Sensación desagradable de deseo de vomitar.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Vómito	Expulsión por la boca del contenido gástrico.	Expediente Clínico	Sí No
Artralgia	Síntoma referido como dolor en articulaciones de intensidad variable.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Mialgia	Síntoma referido como dolor muscular difuso de intensidad variable	Expediente Clínico	Sí No Desconocido
Lumbalgia	Síntoma referido como dolor localizado en la región baja de la columna.	Expediente Clínico	Sí No Desconocido

Erupción cutánea	Erupción cutánea localizada en más de uno de los segmentos corporales.	Expediente Clínico	Sí No
Piel moteada	Coloración en piel de aspecto marmóreo.	Expediente Clínico	Sí No
Rubor facial	Enrojecimiento del rostro.	Expediente Clínico	Sí No
Equimosis	Coloración oscura de la piel o mucosa de bordes irregulares, secundario a extravasación sanguínea	Expediente Clínico	Sí No
Manifestación Hemorrágica	Cualquiera de uno de los siguientes signos presentes durante el examen físico: prueba del torniquete positivo, petequias en piel, epistaxis, gingivorragia, melena, hematuria, equimosis y/o hemorragia vaginal.	Expediente Clínico	Sí No
Prueba del torniquete positivo	Presencia de 10 o más petequias en un área de una pulgada cuadrada posterior a la realización de prueba del torniquete.	Expediente Clínico	Sí No

Epistaxis	Salida de sangre proveniente de las fosas nasales.	Expediente Clínico	Sí No
Gingivorragia	Sangrado proveniente de las encías.	Expediente Clínico	Sí No
Petequias	Lesiones redondeadas, rojas, del tamaño de una cabeza de alfiler que no desaparecen a la digito-presión.	Expediente Clínico	Sí No
Hematemesis	Presencia de vómito de sangre indicativo de hemorragia gastrointestinal superior.	Expediente Clínico	Sí No
Melena	Coloración anormal de las heces, generalmente de color negro cuya etiología es sangrado gastrointestinal.	Expediente Clínico	Sí No
Hematuria	Reporte de laboratorio que indica la presencia de más de seis eritrocitos por campo en orina centrifugada.	Expediente Clínico	Sí No
Piel fría o frialdad distal	Sensación de frialdad en extremidades distales en comparación con el resto del cuerpo.	Expediente Clínico	Sí No
Palidez distal	Ausencia de coloración en piel de las extremidades distales.	Expediente Clínico	Sí No

Llenado capilar > 2 segs.	Prolongación del tiempo de llenado capilar en las extremidades distales. Se marcará como positivo al exceder más de dos segundos.	Expediente Clínico	Sí No
Dolor abdominal	Dolor abdominal intenso y persistente, de aparición brusca en la cavidad abdominal.	Expediente Clínico	Sí No
Hemoconcentración >20%	Aumento en los valores del hematocrito en más del 20% de su valor normal.	Expediente Clínico	Sí No
Caso Positivo de Dengue	Caso que presentó infección por virus dengue de acuerdo en una o más de las técnicas establecidas en el protocolo del estudio	Reporte de Laboratorio de Virología	Sí No
Caso Negativo de Dengue	Caso que presentó infección por virus dengue de acuerdo en una o más de las técnicas establecidas en el protocolo del estudio	Reporte de Laboratorio de Virología	Sí No
Número de leucocitos	Número total de leucocitos reportados en Biometría Hemática Completa.	Reporte de BHC	x 1000/mm ³
Número de plaquetas	Número total de plaquetas reportados en Biometría	Reporte de BHC	x 1000/mm ³

	Hemática Completa.		
Porcentaje de Segmentados	Cantidad que corresponde proporcionalmente al total de leucocitos.	Reporte de BHC	Porcentaje
Porcentaje de Linfocitos	Cantidad que corresponde proporcionalmente al total de leucocitos.	Reporte de BHC	Porcentaje
Porcentaje de células medias	Cantidad que corresponde proporcionalmente al total de leucocitos.	Reporte de BHC	Porcentaje
Serotipo	Tipo de virus dengue identificado en prueba de Inmunofluorescencia Indirecta.	Reporte de Laboratorio de Virología	Uno, Dos , Tres y Cuatro

RESULTADOS.

Características Generales

Un total de 1,593 participantes del estudio cumplieron protocolo para efectuar diagnóstico confirmatorio de Dengue, de los cuáles el 10% (159) resultó positivo de infección por virus Dengue. El número de casos confirmados varió en cada uno de los años del estudio (Ver Tabla 1).

La frecuencia de la enfermedad fue similar en ambos sexos, el 52% (823) de los casos sospechosos correspondió al sexo masculino (Ver Tabla 2). El grupo que se encontró en mayor riesgo de presentar infección sintomática de dengue fue el grupo de 6 - 12 años con un Riesgo Relativo (RR) de 1.7 (IC95% 1.1 – 2.4, valor de $p < 0.05$ (Ver Tabla 3).

Respecto al estado nutricional no se observó diferencias en la proporción de participantes eutróficos, con riesgo nutricional y desnutrición, entre los casos positivos y negativos de dengue, exceptuando por los participantes con obesidad que mostraron mayor riesgo de presentar infección sintomática por dengue. (RR 1.8, IC 95% 1.05 – 3.08, valor de $p < 0.05$) (Tabla 4).

Durante los 4 años de investigación, los participantes mostraron alta adherencia a los procedimientos del estudio acudiendo el 97% en los primeros tres días posterior al inicio de fiebre (Gráfico 1).

El cuadro clínico que prevaleció entre los casos positivos de dengue fue el de Dengue Clásico (DC) con 112 participantes, 10 de los cuales desarrollaron Dengue Hemorrágico/Síndrome de Choque (DH/SCD) por dengue y 47 fueron diagnosticados con Síndrome Febril Indiferenciado (Tabla 5). Aquellos casos que fueron diagnosticados en uno de los cuadros clínicos de Dengue (incluyendo DC, DH o SCD) el estudio demostró mayor riesgo de infección por virus Dengue, (RR 2.2, IC 95% 1.6 – 3 valor de $p < 0.001$) que en los casos con síndrome febril indiferenciado.

Entre los casos positivos de dengue el 54.72% presentó respuesta inmune secundaria, la cual se encontró asociada significativamente al grupo etario ≥ 5 años de edad, mientras que respuesta inmune primaria resultó asociada al grupo etario entre los 2 – 4 años de edad. En dos casos positivos no se determinó el tipo de respuesta inmune por falta de muestra convaleciente (Tabla 6).

En 142 de los casos confirmados se logró identificar el serotipo de virus Dengue; de los cuales el 65.5%, 22% y el 0.6% correspondieron a los serotipos 1, 2 y 4, respectivamente; además dos casos de infección concurrente fueron identificados, uno con serotipos 1/4, y otra con serotipos 1/2. En 17 casos restantes no se logró identificar serotipo de virus dengue, pero se confirmó infección por el aumento en el título de anticuerpos entre muestra inicial y convaleciente (Grafico2).

Análisis Bivariado

Todos los criterios de la Organización Mundial de la Salud que definen Dengue Clásico, exceptuando dolor retro-orbital, resultaron asociados significativamente a infección por dengue en la primera consulta. Además de éstos se encontraron asociados significativamente otros síntomas y signos como: eritema facial, eritema faríngeo, dolor de garganta, neutrofilia $\geq 70\%$ y plaquetas $\leq 250,000/\text{mm}^3$, leucocitos $\leq 10,000/\text{mm}^3$ (ver Tabla 7).

En gráficos 3, 4 y 5 se puede observar la media y el error estándar de los parámetros de BHC en relación al primer día de presentación de los casos sospechosos, estableciéndose diferencia en los valores totales de leucocitos, plaquetas, y % de neutrófilos desde el primer día de inicio de fiebre.

Entre los casos con edad mayor de 4 años predominaron los siguientes síntomas y signos: eritema facial, eritema faríngeo/dolor de garganta, prueba del torniquete positiva, petequias espontáneas, erupción cutánea, leucocitos totales $\leq 10,000/\text{mm}^3$ y plaquetas $\leq 250,000/\text{mm}^3$; mientras que en el grupo ≤ 4 años predominaron: erupción cutánea, dolor de garganta y leucocitos totales $\leq 10,000/\text{mm}^3$. El complejo de síntomas característicos de cefalea, dolor retro-orbital, mialgia y artralgia no resultó asociado significativamente en ambos grupos etarios (Tabla 8 y 9).

Al estratificar el diagnóstico clínico por edad se puede observar que el síndrome febril indiferenciado se encontró asociado al grupo etario ≤ 4 años, mientras que el diagnóstico de dengue se asoció al grupo ≥ 5 años. (Datos no mostrados)

Erupción cutánea y grupo etario ≤ 5 años se encontró asociado a respuesta inmune primaria, mientras que neutrofilia $\geq 70\%$, hematuria y grupo etario ≥ 6 años resultó asociado significativamente a respuesta inmune secundaria. (Datos no mostrados)

Análisis de Regresión Logística Múltiple

Los siguientes síntomas/signos resultaron asociados significativamente a infección sintomática por Dengue: cefalea, eritema faríngeo/dolor de garganta, ausencia de tos, erupción cutánea, plaquetas $\leq 250,000/\text{mm}^3$, leucocitos $\leq 10,000/\text{mm}^3$ y neutrófilos $\geq 70\%$ (Tabla 10).

La presencia de 4 signos o más tiene una sensibilidad de 87.2% y una especificidad del 57.2%. Los valores de sensibilidad y especificidad con dos o más criterios de la OMS fueron de 72 y 46.2%, respectivamente; así mismo al calcular los parámetros clínicos de sensibilidad y especificidad al cumplir cuatro criterios de la definición clínica los resultados fueron de 33.1 y 82%, respectivamente (Tabla 11 y 12).

El análisis de la curvas característica operador – receptor revela que el área de cobertura de las variables en el modelo es de 0.7687, mientras que el área de cobertura que incluye

los criterios de definición de OMS para dengue es de 0.6312, indicando mayor poder de predicción de infección sintomática por dengue utilizando las variables estudiadas en el modelo (Tabla 13 y Gráfico 7).

DISCUSION

Ventajas de este estudio es el incluir aquellos diagnósticos de dengue clásico y síndrome febril indiferenciado, los que constituyeron el 93.7% de infección sintomática por dengue. Muchos estudios enfocan en la detección temprana de signos de dengue hemorrágico^(6,8), cuando la mayoría de las infecciones sintomáticas en niños son subclínicas o puede ser difícil de diferenciar de otras enfermedades febriles. El estudio incluye períodos de alta y baja incidencia de enfermedad en los que circularon tres serotipos, predominando el DEN2, además de determinación de la respuesta inmune; todos estos factores mencionados han sido señalados de influenciar las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Además, el alto porcentaje de participantes que se presentaron tempranamente, 75% en las primeras 24 – 48 horas, posterior al inicio de fiebre permitió diferenciar signos pronósticos de infección sintomática por dengue leve de otras enfermedades febriles.

Se observó un incremento en la proporción de casos confirmados de dengue clásico con respecto a síndrome febril al incrementarse la edad, predominando el síndrome febril indiferenciado hasta la edad de 4 años y posteriormente el dengue clásico a partir de los 5 años. Esto concuerda con investigaciones anteriores que concluyen que a mayor edad del niño más parecido al dengue clásico es la enfermedad, Este dato puede variar en dependencia a la edad en que ocurre la infección primaria en cada país. ⁽²⁶⁾

Otras investigaciones han reportado otros signos clínicos tempranos asociados a infección por dengue distintos a los criterios de la OMS en población pediátrica entre los que sobresale eritema facial ⁽¹²⁾, así como la ausencia de tos y rinorrea ^(12, 17). Aunque no es tan frecuente en las infecciones sintomáticas de dengue, erupción cutánea resultó asociada significativamente desde los primeros días de enfermedad independientemente de las otras variables ⁽¹⁷⁾. Dolor de garganta y eritema faríngeo han sido reportados también como síntomas comunes en dengue clásico y hemorrágico, pero a nuestro conocimiento, es primera vez que resultan asociados significativamente a dengue ⁽¹⁴⁾. Otros estudios han reportado anorexia, náusea, vómito y prueba del torniquete positivo como indicadores tempranos de dengue, pero dichos estudios han sido realizados en hospitales, en los cuales una proporción importante de los participantes son casos de dengue hemorrágico ⁽¹¹⁾.

El número de leucocitos en parámetros normales y presencia de neutrofilia ha sido descrito como hallazgos de Biometría Hemática Completa al inicio de la fase febril de dengue, en nuestro estudio se demuestra que ambos parámetros ayudan a distinguir dengue de otras enfermedades febriles ya que los casos negativos de dengue mostraron un número mucho mayor de leucocitos totales y menor porcentaje de neutrófilos. Otros estudios señalan predominio de linfocitos como indicador de dengue pero en éstos no se indica el porcentaje de participantes que acudieron en las primeras 24 – 48 horas de inicio de la enfermedad. Además de estos parámetros, la media de plaquetas resultó significativamente menor en los pacientes confirmados de dengue que en los casos

negativos desde las primeras 24 horas de enfermedad, esto concuerda con otros estudios que concluyen que menor número plaquetas es un indicador temprano de dengue ⁽¹¹⁾.

La mayoría de los casos de este estudio incluyen manifestaciones leves de la enfermedad por lo que no podría usarse centros de atención secundaria donde acuden pacientes más graves y en etapas tardías de la enfermedad. Durante los 4 años del estudio circularon principalmente los serotipos 1 y 2, en publicaciones anteriores se ha mencionado que serotipo 3 puede causar manifestaciones clínicas severas incluso en infecciones primarias ⁽²⁵⁾.

Aunque en el análisis bivariado prueba del torniquete positivo y petequias resultaron asociadas significativamente a dengue, ninguna de ellas resultó ser un signo predictor de dengue leve como resultado del análisis de regresión logística, esto ha sido mencionado en otros estudios ⁽¹²⁾ y puede estar relacionado a que el número de plaquetas aún no ha descendido lo suficiente para causar hemorragias espontáneas al inicio de la enfermedad, aunque otros estudios han encontrado que prueba del torniquete es positiva en estadios tempranos de la enfermedad pero a diferencia de nuestro estudio la mayoría de los casos lo constituyen casos de dengue hemorrágico ⁽¹¹⁾.

Aunque el modelo ofrece ventajas comparativas, ya que a diferencia de otros no es necesario realizar pruebas complementarias como TP, TPT, o exámenes de química sanguínea, éste debe ser validado en otras poblaciones pediátricas previo a una implementación en sistema nacional de vigilancia.

CONCLUSIONES

Signos específicos y hallazgos de laboratorio fueron encontrados asociados significativamente a infección sintomática temprana por dengue en una población pediátrica comprendida entre los 2 – 12 años de edad.

Entre las manifestaciones clínicas tempranas se encuentran signos que no forman parte de los criterios de definición de dengue de la Organización Mundial de la Salud, tales como: dolor de garganta, eritema faríngeo, eritema facial así como un leve descenso en el número de plaquetas y ligera neutrofilia, los que podrían ser usados para mejorar la tasa de captura de infección leve por virus dengue en el sistema nacional de vigilancia de enfermedades.

El modelo resultante estudio presenta 4 signos clínicos y 3 de laboratorio que permite diferenciar eficientemente los casos sintomáticos de dengue de otras enfermedades febriles en etapa temprana de la enfermedad en comparación con la actual definición de dengue clásico de la Organización Mundial de la Salud.

RECOMENDACIONES

Los signos clínicos encontrados asociados a dengue podrían utilizarse en algoritmos que permitan la clasificación de pacientes febriles en unidades de atención primaria en países en los que el dengue es una enfermedad endémica.

Aplicación de estos signos clínicos puede evitar diagnósticos erróneos de dengue y prevenir demoras en el diagnóstico y tratamiento de otras enfermedades infecciosas de la infancia.

La utilización de estos parámetros en el sistema de vigilancia epidemiológica podría coadyuvar en el método de decisión de los casos febriles a los que es necesario realizar exámenes confirmatorios.

Estudios de validación que incluyan un mayor número de pacientes y diferentes regiones son necesarios previo a la implementación de algoritmos clínicos basados en estos resultados. Además sería conveniente efectuar estudios para evaluar la aceptación por profesionales de la salud.

ANEXOS

Tabla 1
Número de Casos Confirmados de Dengue por Año de Estudio
Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua
Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Año de Estudio*	No. Casos Positivos	No. Casos Negativos	Total
1	17	316	333
2	64	517	582
3	13	397	410
4	65	204	268
Total	159	1,434	1,593

*Año de estudio abarca temporada de Dengue. Año 1 Septiembre 2004 – Junio 2005, Año 2 Julio 2005 – Junio 2006, Año 3 Julio 2006 – Junio 2007 y Año 4 Julio 2007 – Diciembre 2007.

Tabla 2

Número de Casos Confirmados de Dengue por Sexo
Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua
Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Sexo*	No. Positivos	No. Negativos	Total
Masculino	85	738	823
Femenino	74	696	770
Total	159	1,434	1,593

* RR=1, IC 95% 0.8 – 1.4, valor de p >0.5

Tabla 3

Número de Casos Confirmados de Dengue por Grupo Etario

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Grupo Etario*	No. Positivos	No. Negativos	Total
≤ 4 Años	30	414	444
≥ 5 Años*	129	1,020	1,149
Total	159	1,434	1,593

* RR 1.7, IC 95% 1.1 – 2.4, valor de $p < 0.05$

Tabla 4
Estado Nutricional en Casos Confirmados de Dengue
Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua
Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Estado Nutricional	Positivos		Negativos	
	No.	%	No.	%
Eutrófico	130	82	1153	80.4
Riesgo Nutricional	12	7.5	159	11.1
Desnutrido	4	2.5	58	4
Sobrepeso*	12	7.5	57	4
Desconocido	1	0.6	7	0.5
Total	159	100.0	1,434	100

* RR 1.8, IC 95% 1.05 – 3.08, valor de p <0.05

Gráfico 1

Presentación a Primera Consulta Posterior al Inicio de Fiebre

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

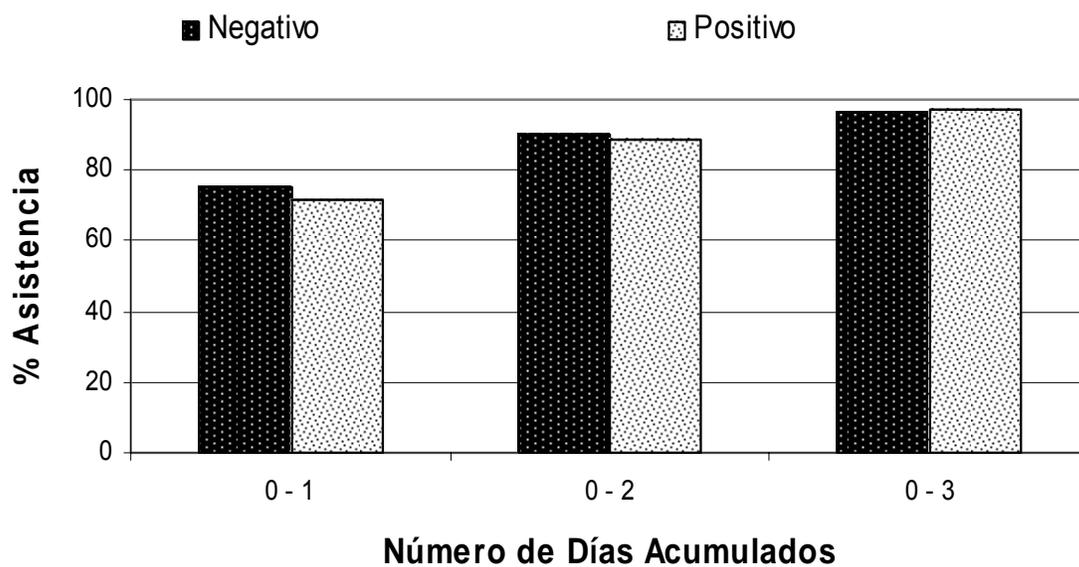


Tabla 5

Cuadro Clínico Presente en Casos Positivos De Dengue

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Cuadro Clínico	No. Positivos	No Negativos	Total
Síndrome Febril Indiferenciado	47	714	761
Dengue Clásico	102	720	822
Dengue Hemorrágico/SCD*	10	0	10
Total	159	1,434	1,593

* SCD: Síndrome de Choque por Dengue.

Tabla 6

Tipo de Respuesta Inmune por Grupo Etario

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Grupo Etario	Primaria		Secundaria		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
≤ 4 Años	20	67	10	33	30	24
≥ 5 Años*	50	39.3	77	60.7	127	76

* RR 1.8, IC 95% 1.1 – 3.1, valor de p<0.05

Gráfico 2

Serotipos Identificados en Casos Positivos de Dengue por Año de Estudio

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

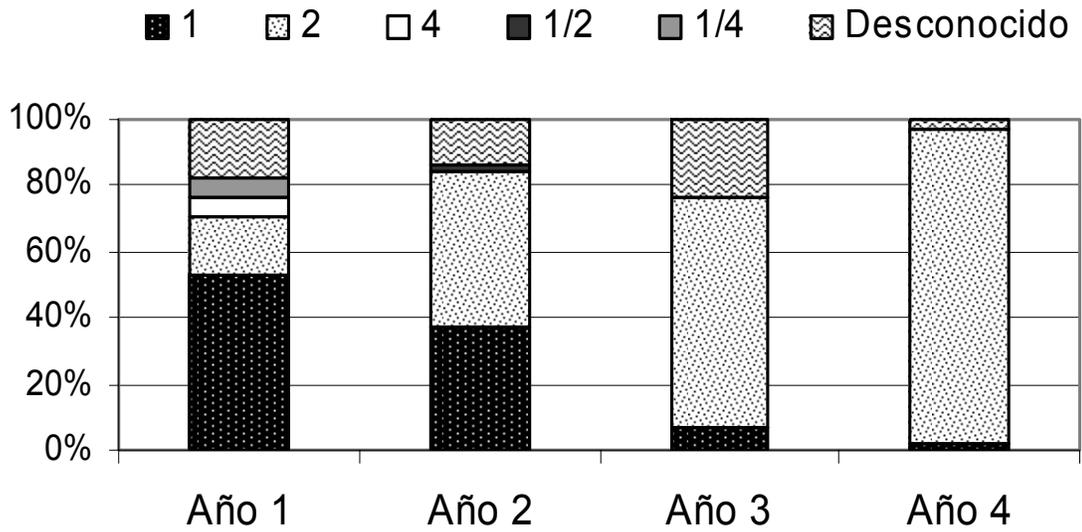


Tabla 7

Signos y Síntomas Asociados a Infección Sintomática por Dengue en Consulta Inicial

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Signos y Síntomas	Positivos		Negativos		RR	IC (95%)	Valor de p
	Presente	Ausente	Presente	Ausente			
Fever ≥ 38 °C	83	76	587	847	1.5	1.1 - 2	<0.05
Cefalea	129	30	1015	419	1.7	1.1- 2.5	<0.05
Artralgia	72	87	495	936	1.5	1.1- 2	<0.05
Mialgia	62	97	396	1036	1.6	1.2 - 2.1	<0.05
Dolor Retroocular *	52	107	369	1064	1.3	0.98 - 1.84	0.05
Prueba Torniquete Positiva	40	115	188	1226	2	1.5 -2.8	<0.001
Petequias espontáneas	10	145	28	1387	2.8	1.6 - 4.8	<0.001
Erupción cutánea	19	140	54	1380	2.8	1.9 - 4.3	<0.001
Manifestación Hemorrágica	46	113	277	1157	1.6	1.2 - 2.2	<0.05

Dolor de garganta	101	58	699	735	1.7	1.3 - 2.3	<0.001
Eritema Facial	4	82	9	856	3.5	1.5 - 8.2	<0.05
Eritema Faríngeo	60	26	436	428	2.1	1.3 - 3.3	<0.001
Leucocitos \leq 10,000/mm ³	137	22	870	564	3.6	2.3 - 5.6	<0.001
Plaquetas \leq 250,000/mm ³	85	74	487	947	2	1.5 - 2.7	<0.001
Neutrófilos \geq 70%	93	66	702	732	1.4	1.04 - 1.9	<0.05

* No significativo

Tabla 8**Signos y Síntomas Asociados a Dengue en Niños mayores de 4 años****Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua****Septiembre 2004 – Diciembre 2007**

Signos y Síntomas	Positivos		Negativos		RR	IC (95%)	Valor de p
	Presente	Ausente	Presente	Ausente			
Prueba Torniquete Positiva	31	78	114	680	2	1.4 - 3	<0.001
Petequias espontáneas	10	99	16	778	3.4	2 – 5.7	<0.001
Erupción Cutánea	13	100	31	771	2.6	1.6 – 4.2	<0.001
Manifestación hemorrágica	36	77	166	636	1.65	1.1 – 2.4	<0.05
Eritema facial	4	62	7	514	3.4	1.5 – 7.6	<0.05
Plaquetas \leq 250,000/mm ³	64	49	284	518	2.1	1.5 - 3	<0.001
Leucocitos \leq 10,000/mm ³	99	14	524	278	3.3	1.9 – 5.7	<0.001
Eritema Dolor de garganta	46	20	261	259	2	1.3 – 3.5	<0.05

Tabla 9**Signos y Síntomas Asociados a Dengue en Niños Menores de 5 años****Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua****Septiembre 2004 – Diciembre 2007**

Signos y Síntomas	Positivos		Negativos		RR	IC (95%)	Valor de p
	Sí	No	Sí	No			
Rash	6	40	23	609	3.3	1.5 – 7.3	<0.05
Dolor de garganta	29	17	295	337	1.9	1.04 – 3.3	<0.05
Leucocitos \leq 10,000/mm ³	40	6	349	283	4.9	2.1 – 11.5	<0.001

Tabla 10**Signos y Síntomas Asociados a Infección Sintomática por Dengue****Análisis Multivariado****Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua****Septiembre 2004 – Diciembre 2007**

Signos y Síntomas	OR	IC (95%)	valor de p
Cefalea	2.0	1.1 – 3.6	<0.05
Eritema Faríngeo / Dolor de garganta	2.2	1.3 – 3.7	<0.05
Ausencia de Tos	2.4	1.2 – 4.6	<0.05
Plaquetas $\leq 250,000/\text{mm}^3$	2.4	1.5 – 3.9	<0.001
Leucocitos $\leq 10,00/\text{mm}^3$	7.7	3.5 – 16.9	<0.001
Neutrófilos $\geq 70\%$	2.1	1.3 – 3.4	<0.05
Erupción cutánea	4.6	1.8 – 11.8	<0.05

Tabla 11**Parámetros Clínicos Diagnósticos de Acuerdo al Número de Signos Presentes****Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua****Septiembre 2004 – Diciembre 2007**

Número de Signos/ Síntomas	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP* (%)	VPN (%)
≥ 1	100	0.2	9.0	100
≥ 2	100	4.7	9.5	100
≥ 3	96.5	24.6	11.3	98.6
≥ 4	87.2	57.2	16.8	97.8
≥ 5	44.2	86.6	24.7	93
≥ 6	10.5	98.3	37.5	91.7

VPP: Valor Predictivo Positivo, VPN: Valor Predictivo Negativo.

Tabla 12

Parámetros Clínicos Diagnósticos respecto al número de criterios de la OMS

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Número de Signos/ Síntomas	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP* (%)	VPN (%)
0	100	0	9.87	0
≥ 1	91.56	19.3	11	95.4
≥ 2	72	46.2	12.8	93.8
≥ 3	51.9	66.6	14.6	92.7
≥ 4	33.1	82	16.8	91.8
≥ 5	16.2	96.3	32.5	91.3
≥ 6	3.9	99.4	42.9	90.4
≥ 7	1.3	99.9	66.7	90.2

VPP: Valor Predictivo Positivo, VPN: Valor Predictivo Negativo.

Gráfico 3

Media y Error Estándar en Número Total de Leucocitos en Primera Consulta

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

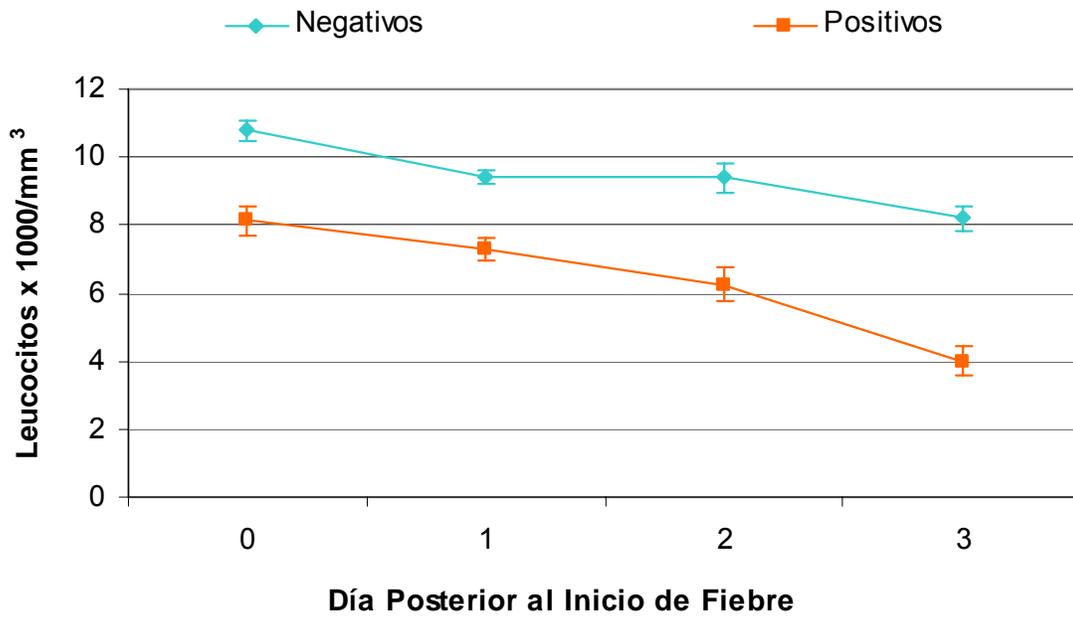


Gráfico 4

Media y Error Estándar en Número Total de Plaquetas en Primera Consulta

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

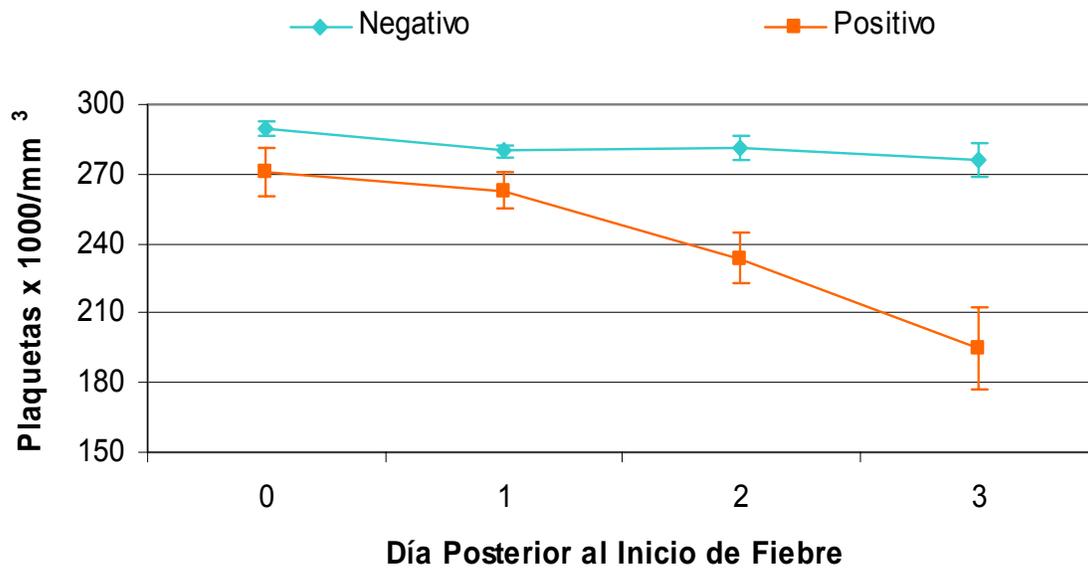


Gráfico 5

Media y Error Estándar en Número Porcentaje de Neutrófilos

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

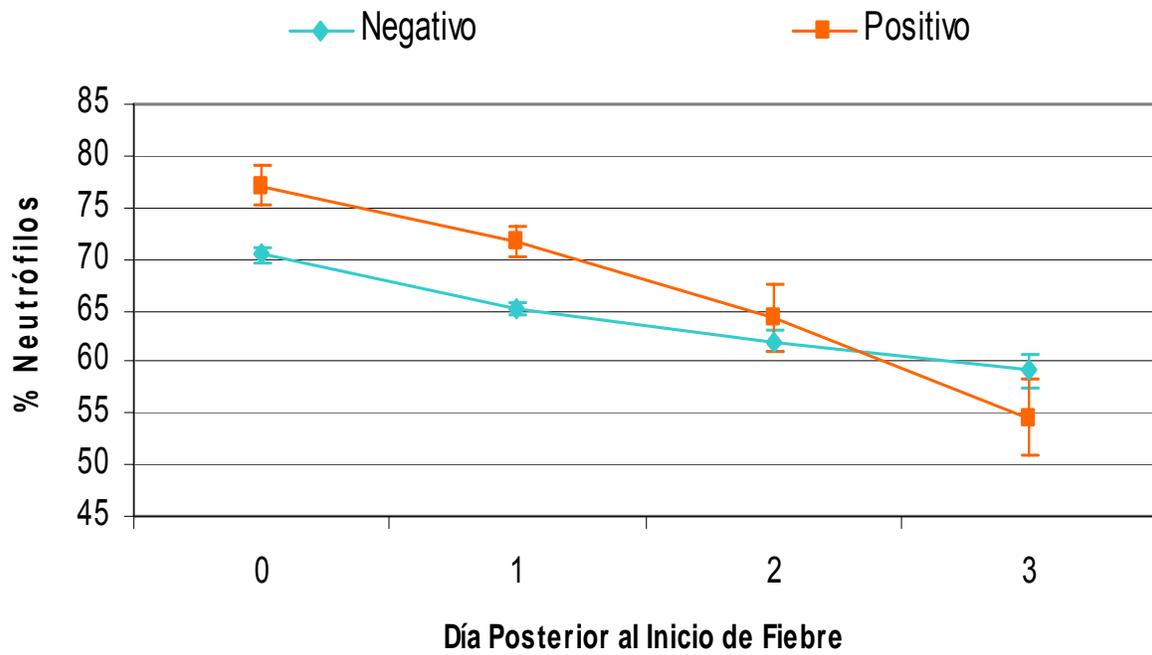


Gráfico 6

Media y Error Estándar en Número Porcentaje de Hemoconcentración

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

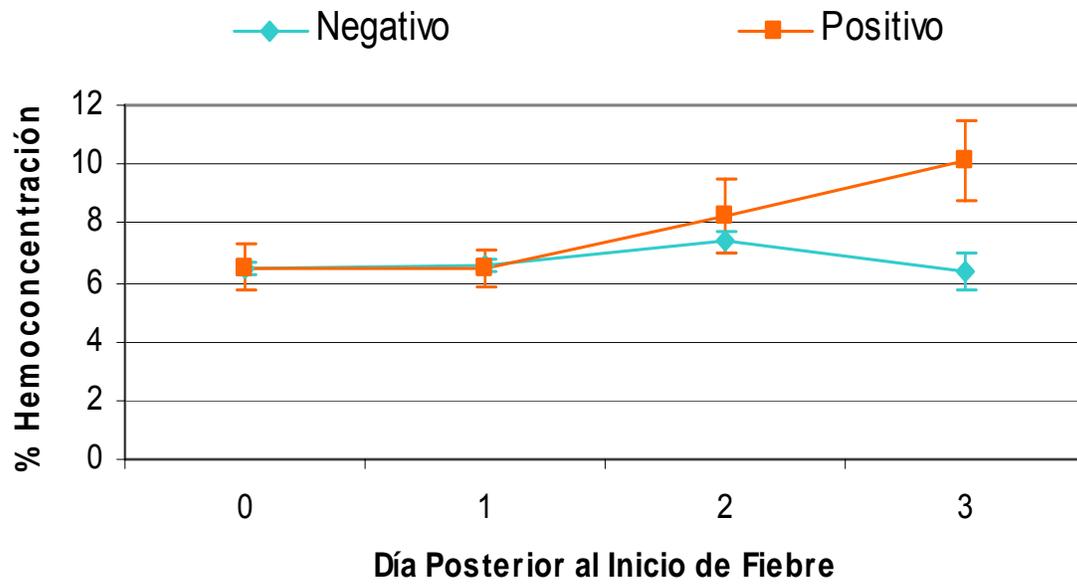


Tabla 13

Area Bajo la Curva ROC de la de la definición de la OMS y del Modelo propuesto

Centro de Salud “Dr. Sócrates Flores Vivas” Managua

Septiembre 2004 – Diciembre 2007

Modelo	Area bajo curva ROC	Error Estándard	IC (95%)
Estudio de Cohorte*	0.7678	0.0232	0.73917 – 0.79390
OMS	0.6356	0.0235	0.61146 – 0.65982

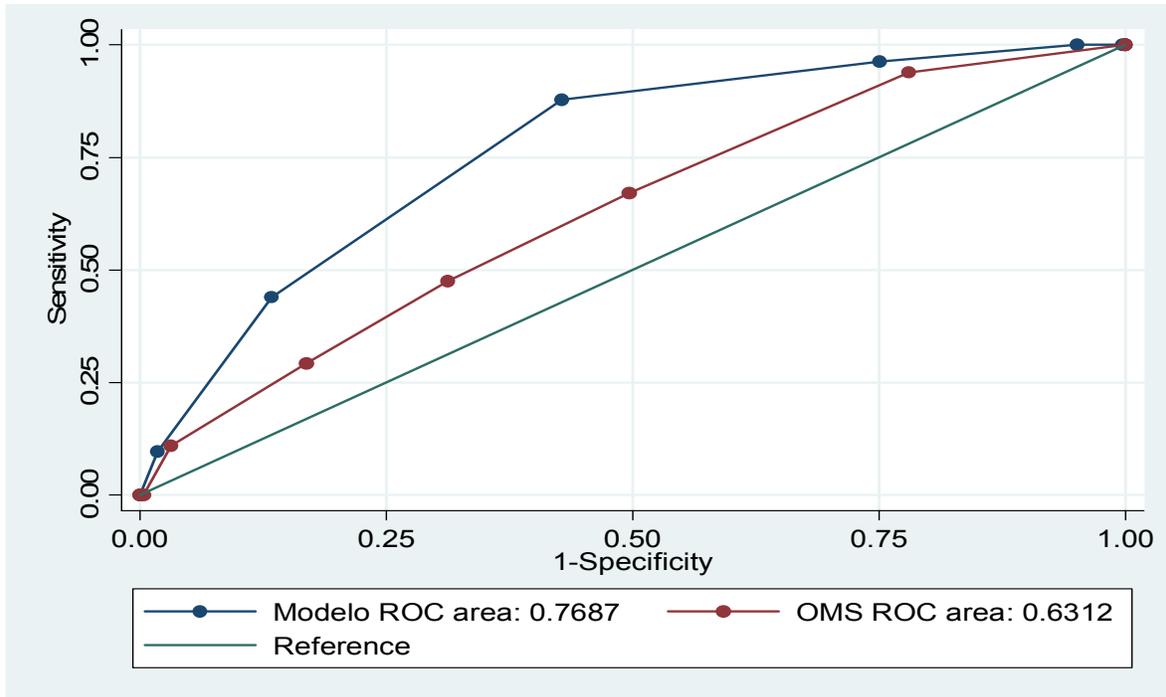
* Valor de $p < 0.001$

OMS: Organización Mundial de la Salud

IC: Intervalo de Confianza

Gráfico 7

Area bajo la Curva ROC de la definición de la OMS y el Modelo propuesto para el Diagnóstico de Dengue





CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION



COORDINADORES DEL PROYECTO:

Dra. Eva Harris, División de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Salud Pública, Universidad de California, Berkeley
Dr. Angel Balmaseda, Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, Ministerio de Salud, Nicaragua
Dr. Juan José Amador, Dirección General de Salud Ambiental y Epidemiología, Ministerio de Salud, Managua, Nicaragua
Dr. Alcides González, Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, Ministerio de Salud, Managua, Nicaragua
Dra. Guillermina Kuan, Centro de Salud Sócrates Flores Vivas, SILAIS Managua
Dra. Crisanta Rocha, Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera, La Mascota, Managua, Nicaragua
Nicole Fitzpatrick, MPH Instituto de Ciencias Sostenibles, San Francisco, CA

TITULO DEL PROYECTO:

Estudio de Cohorte Pediátrico de Dengue en Nicaragua.

Parte A: Consentimiento para participar en el estudio.

¿PORQUÉ HACEMOS ESTE ESTUDIO?

El Dengue es una enfermedad muy conocida que afecta a muchas personas aquí en Managua. La mejor manera de reducir el número de personas enfermas debido al Dengue sería una vacuna, la cual en este momento no está disponible al público. Investigadores ya están trabajando dedicadamente para obtener una vacuna que sea segura y eficaz para Dengue. Hay posibilidad que en un futuro se podría estudiar esta vacuna en niños de Managua. Para ello es necesario darle seguimiento a un grupo de niños durante algunos años, antes de probar una vacuna, en los cuales se estudiará el comportamiento de la enfermedad de Dengue.

Le invitamos a que considere que su niño participe en este estudio de investigación, En este formulario que se le dejará copia encontrará información completa del estudio. La participación de su niño/a en el estudio es **voluntaria**. Si decide participar, por favor asegúrese de firmar y poner la fecha al final de la última página de este formulario.

¿QUE PASARA DURANTE ESTE ESTUDIO?

El estudio inició en Agosto del 2004 y fue recientemente extendido a Diciembre 2009. Estaremos brindando la oportunidad a niños de 2 a 11 años para ingresar y participar en los siguientes tres años del estudio, 2007-2009 y esperamos ingresar alrededor de 3750 niños. Si usted decide participar, hoy mismo se le solicitarán datos generales del niño/a.

Cada año entre Julio y Agosto, le visitaremos a su casa o se le solicitará que visite el Centro de Salud Sócrates Flores para preguntarle sobre la salud de su niño/a y para tomarle una muestra de sangre en el brazo, llenando dos tubos (7cc en total) para estudiar la enfermedad de Dengue y para realizar Biometría Hemática Completa(BHC) con el objetivo de valorar el estado de salud de su niño/a. Esta visita tomará unos 10 minutos.

Las pruebas se realizarán en el Centro de Salud(C/S) Sócrates Flores, el Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR) y podrían ser enviadas a algún laboratorio fuera del país con previa autorización de parte del Ministerio de Salud de Nicaragua. Si su niño/a abandona el estudio, usted no podrá recuperar las muestras almacenadas del niño/a.

Se le citará para que se presente al C/S Sócrates Flores dos días después de la toma de muestra anual para entregarle el resultado de Biometría Hemática y de ser necesario pasará consulta con

un médico. También se le dará un carnet de identificación al niño/a que está participando por primera vez el cual debe presentar siempre que requiera atención médica en el C/S o el Hospital "La Mascota". Al final, se le tomará una huella digital para la identificación del niño/a como participante del estudio. La cita durará entre 20 minutos a una hora dependiendo de la cantidad de niños que estén presentes.

Se realizarán visitas domiciliarias durante el año para preguntar acerca del estado de salud de su niño/a, la cual tomará menos de diez minutos.

Al estar de acuerdo en participar en este estudio, Ud. se compromete a traer a su niño/a inmediatamente al C/S Sócrates Flores cada vez que enferme en los próximos tres años. Es importante para nosotros evaluar y monitorear la enfermedad de Dengue en su niño/a. Si su niño/a presenta fiebre o cualquier otra enfermedad, deberá asistir al C/S Sócrates Flores y llevar su tarjeta de identificación. Si olvida traer su tarjeta de identificación el personal del centro de salud verificará la identidad del niño por otros medios. En el C/S se le brindará atención médica y se le tomarán los exámenes de laboratorios pertinentes y disponibles. A los niños sospechosos de dengue se le tomarán dos muestras de sangre con un intervalo de 2 – 3 semanas para confirmar el diagnóstico y se brindará seguimiento diario, incluyendo exámenes del laboratorio cuando sea necesario y atención médica al niño/a para valorar la evolución de la enfermedad. Además, si su niño se presenta al centro de salud con fiebre y otra enfermedad distinta al dengue tal vez tomaremos una muestra de sangre para descartar el diagnóstico de dengue. Ante cualquier complicación, su niño/a será trasladado inmediatamente a un Hospital.

Riesgos e Incomodidades: Los riesgos asociados a la toma de sangre son dolor temporal localizado, moretones en el sitio del pinchazo, mareo y muy infrecuentemente, una infección. Se minimizan estos riesgos usando personal experimentado para realizar la toma de la sangre y utilizando técnica estéril.

Beneficios: Si su niño se enferma, recibirá atención médica personalizada en el Centro de Salud Sócrates Flores todos los días las 24 horas. Se contará con equipos modernos y automatizados para realizarle pruebas de sangre necesarios para el seguimiento y vigilancia de la enfermedad de Dengue. Se le monitoreará el estado nutricional del niño (si tiene anemia, desnutrición, etc). Si requiere **hospitalización por Dengue**, le transferiremos al Hospital del Niño "La Mascota," asumiendo los costos de esa hospitalización (tratamiento, exámenes de laboratorio, ultrasonido). Se le entregará vitaminas a su niño durante el muestreo anual y también al tiempo de su visita convaleciente al centro de salud si su niño es sospechoso para dengue. Además, su participación beneficiará a la investigación para mejorar la prevención y control del Dengue.

¿QUIÉN PUEDE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACION?

En este estudio, estamos ingresando a niños/as de **dos a once** años de edad, cuyos padres no piensan mudarse de casa en los próximos tres años y que además están de acuerdo en acudir al C/S Sócrates Flores para cuidado médico.

No podrán participar en el estudio aquellas personas que han vivido en el barrio menos de seis meses aunque sean dueños del domicilio, ni personas que alquilan vivienda y han vivido en el barrio por menos de dos años.

El estudio guardará la información y los resultados acerca de su niño/a de manera confidencial. Solamente personal de salud autorizado tendrá acceso al nombre de su niño/a y en otras ocasiones se identificará al niño/a o sus muestras por una codificación.

No se le pagará por participar en este estudio. Su participación es voluntaria y Ud. puede retirarse en el momento que lo desee. Si decide retirarse, debe comunicárselo a la enfermera del C/S Sócrates Flores u otro personal del estudio.

El personal del estudio puede retirar la participación del niño/a de este estudio en cualquier momento, aunque desee continuar participando. Esto podría pasar si se presentan las situaciones siguientes:

- Ud. se aleja del área de cobertura del C/S Sócrates Flores.
- El médico del estudio cree que es mejor para usted finalizar la participación de su niño/a en el estudio por razones médicas.
- Ud. no sigue los procedimientos descritos en esta carta.
- La investigación ha sido finalizada por cualquier razón.

Para cualquier pregunta o problema, llame al teléfono 2660841 al C/S Sócrates Flores a Dra. Guillermina Kuan (correo electrónico drakuan@yahoo.com.mx) y/o al CNDR con Dr. Angel Balmaseda al teléfono 2897723 (correo electrónico virologia@minsa.gob.ni).

Es improbable que su niño/a sufra algún daño como resultado de este estudio, pero si esto sucede tendrá a su disposición cuidado médico. Dependiendo de varios factores, los costos de estos cuidados podrían ser cubiertos por el proyecto. Si tiene algunas preguntas con respecto a esta afirmación o sus derechos como sujeto en una investigación, puede consultar a las personas mencionadas a continuación, quienes integran el Comité Ético para proteger participantes del estudio: Dr. Alberto Montoya del CNDR, Ministerio de Salud (289 77 23), parasitologia@minsa.gob.ni, Dr. Félix Sánchez del Hospital Infantil "La Mascota" (289 77 02), o el Comité de Protección de Sujetos Humanos, 101 Wheeler Hall, Universidad de California, Berkeley, CA 94720-1340, número telefónico 510-642-7461 o correo electrónico cphs@berkeley.edu.

CONSENTIMIENTO DEL PADRE/TUTOR DEL SUJETO:

Todas mis preguntas fueron respondidas con satisfacción. Me han dicho que la participación de mi niño/a en este estudio es voluntaria y que él/ella puede dejar de participar en este estudio en cualquier momento.

Doy permiso para la toma de muestra de sangre de mi niño/a para ser utilizada en este estudio de investigación y permito que los investigadores utilicen la información recolectada en los expedientes de mi niño/a.

Nombre del participante

Código del estudio

Nombre del Padre o responsable legal

Firma del Padre o responsable legal

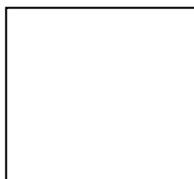
Fecha

En el caso que el padre/responsable legal es analfabeto:

Firma del testigo

Fecha

Huella digital del tutor/participante



Nombre de la persona que explico el estudio usando este formulario

Fecha

Guión para Obtener Asentimiento Verbal de Niños

Se utilizará después que los padres/tutores han firmado la carta de consentimiento:

Hola, ¿cómo estás? ¿Cómo te llamas? Yo me llamo XXX. Soy enfermera/o del Centro de Salud Sócrates Flores. Estamos haciendo un estudio sobre el dengue. Queremos invitarte a participar. Tus padres están de acuerdo que participes. El estudio implica que pasaremos a visitarte por tu casa o te pediremos que vayas al Centro de Salud una vez al año por tres años para conversar contigo y para tomar un poco de sangre de tu brazo. Y también implica que irás al el Centro de Salud Sócrates Flores si te enfermas, y allí te tomaremos una pequeña muestra de sangre para hacer pruebas especiales si se sospecha que tienes dengue. Si no quieres participar, está bien, pero quisiéramos que nos ayudes. ¿Estás de acuerdo en participar?

BIBLIOGRAFIA

1. Balmaseda A, Sandoval E, Pérez L, Gutiérrez CM, Harris E. Application of molecular typing techniques in the 1998 dengue epidemic in Nicaragua. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. Diciembre, 1999. Volumen 61, Número 6. págs. 893 – 897.
2. Balmaseda A, Hammond SN, Pérez L, Tellez Y, Saborío SI, Mercado JC, Cuadra R, Rocha J, Pérez MA, Silva S, Rocha C, Harris E. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. Marzo 2006;74(3) págs. 449-56
3. Balmaseda A, Hammond SN, Tellez Y, Imhoff L, Rodriguez Y, Saborío SI, Mercado JC, Pérez L, Videa E, Almanza E, Kuan G, Reyes M, Saénz L, Amador JJ, Harris E. High seroprevalence of antibodies against dengue virus in a prospective study of schoolchildren in Managua, Nicaragua. *Tropical Medicine and Interational Health*. Junio 2006;11(6) págs. 935-42.
4. Hammond SN, Balmaseda A, Pérez L, Tellez Y, Saborío SI, Mercado JC, Videa E, Rodriguez Y, Pérez MA, Cuadra R, Solano S, Rocha J, Idiaquez W, Gonzalez A, Harris E. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a 3-year hospital-based study in Nicaragua. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. Diciembre 2005; 73(6) pág.1063-70.

5. Kittigul L, Pitakarnjanakul P, Sujirarat D, Siripanihgon K. The differences of clinical manifestations and laboratory findings in children and adults with dengue virus infection. *Journal of Clinical Virology*, Junio, 2007, Volumen 39, Número 2, págs. 76 – 81.
6. Kalayanarooj S, Nimmannitya S. Clinical presentations of dengue hemorrhagic fever in infants compared to children. *Journal of the Medical Association of Thailand*. Agosto, 2003. Suplemento Número 86, págs. 673 – 680.
7. Halstead SB, Streit TG, Lafontant JG, Putvatana R, Russell K, Sun W, Kanesa-Thanan N, Hayes CG, Watts DM. Haiti: absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2001 Sep;65(3):180-3.
8. Pichainarong N, Mongkalagoon N, Kalayanarooj S, Chaveepojnkamjorn W. Relationship between body size and severity of dengue hemorrhagic fever among children aged 0-14 years. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. Marzo, 2006;37(2)pág283-8.
9. Cobra C, Rigau-Pérez JG, Kuno G, Vorndam V. Symptoms of dengue fever in relation to host immunologic response and virus serotype, Puerto Rico, 1990-1991. *American Journal of Epidemiology*. Diciembre, 2005. págs. 1204 – 1211.
10. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Endy TP, Raengsakulrach B, Rothman AL, Ennis FA, Nisalak A. Dengue Viremia Titer, Antibody Response Pattern, and Virus Serotype correlate with Disease Severity. *The Journal of Infectious Diseases*. Enero, 2000. Volumen 181, Número 2, págs. 2-9.

11. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S, Green S, Suntayakorn S, Kunentrasai N, Viramitrachai W, Ratanachu-ek S, Kiatpolpoj S, Innis BL, Rothman AL, Nisalak A, Ennis FA. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *Journal of Infectious Diseases*. Agosto, 1997 ; 176(2) pág. 313-321.
12. Díaz-Quijano FA, Villar-Centeno LA, Martínez-Vega RA. Early indicators of dengue infection in children. *Anales de Pediatría (Barcelona)*. Junio, 2006 ;64(6) pág. 523-9.
13. Díaz-Quijano FA, Martínez-Vega RA, Villar-Centeno LA. Early indicators of severity in dengue virus infection *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Noviembre, 2005; 23(9) pág. 529-32.
14. Kalayanarooj, S y Nimmannitya, S. Guidelines for Dengue Hemorrhagic Fever Case Management. WHO Collaborating Centre for Case Management of Dengue/ DHF/DSS. Bangkok, Octubre, 2004.
15. Lugo Edel C, Moreno G, Zachariah MA, López MM, López JD, Delgado MA, Valle SI, Espinoza PM, Salgado MJ, Pérez R, Hammond SN, Harris E. Identification of *Aedes albopictus* in urban Nicaragua. *Journal of the American Mosquito Control Association*. Septiembre, 2005;21(3) págs.325-7.
16. WHO-Anónimo. Dengue haemorrhagic fever. Diagnosis, treatment, prevention and control. Segunda Edición. Ginebra, 1997.

17. Endy TP, Chunsuttiwat S, Ananda N, Libraty DH, Green S, Rothman A, Vaughn DW, Ennis F. Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: A prospective Study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. *American Journal of Epidemiology*. Febrero, 2002. Volumen 156, Número 1, págs 40-51.
18. Wichmann O, Hongsiriwon S, Bowonwatanuwong Ch, Chotivanich K, Sukthana Y, Pukrittayakamee S. Risk factor and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001 epidemic in Chonburi, Thailand. *Tropical Medicine and International Health*. Septiembre, 2004. Volumen 9, Número 9, págs.1022– 1029.
19. Carlos CC, Oishi K, Cinco MT, Mapua CA, Inoue S, Cruz DJ, Pancho MA, Tanig CZ, Matias RR, Morita K, Natividad FF, Igarashi A, Nagatake T. Comparison of clinical features and hematologic abnormalities between dengue fever and dengue hemorrhagic fever among children in the Philippines. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. Agosto, 2005 (2) págs.435-40.
20. Gubler DJ, Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews*. Julio,1998, Volumen 11, Número 3, págs 480 – 496.
21. Balmaseda, A. Manual de Procedimientos de Técnicas para el Diagnóstico del Dengue. Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia. Ministerio de Salud, Managua, Nicaragua, 2002.
22. Balmaseda A, Hammond SN, Pérez MA, Cuadra R, Solano S, Rocha J, Idiaquez W, Harris E. Short report: assessment of the World Health Organization scheme for classification of dengue

severity in Nicaragua. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. Diciembre 2005; 73(6) págs. 1059-62.

23. Chadwick D, Arch B, Wilder-Smith A, Paton N. Distinguishing dengue fever from other infections on the basis of simple clinical and laboratory features: application of logistic regression analysis. Journal of Clinical Virology. Febrero, 2006 Volumen35, Número 2, págs. 147-153.

24. Harris E, Videa E, Pérez L, Sandoval E, Téllez Y, Pérez M de, Cuadra R, Rocha J, Idiaquez W, Alonso R, Delgado M, Campo L, Acevedo F, González A, Amador JJ, Balmaseda A. Clinical, Epidemiologic and Virologic Features of Dengue in the 1998 Epidemic in Niaraqua. American Journal of Tropical Medicine and Higiene. Julio, 2000. págs. 5 – 11.

25. Halstead SB et. al, Dengue Hemorrhagic Fever in Infants: Research Opportunities Ignored. Emerging Infectious Diseases. Volumen 8, Número 12, Diciembre 2002, págs. 1474 – 1478.

26. Halstead SB. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? Revista Panamericana de Salud Pública. Diciembre, 2006 ;20(6) págs. 407-15. Review.