

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA**  
**Facultad de Ciencias Médicas**  
**UNAN - León**



Monografía para optar al Título de:

**“Doctor en Medicina y Cirugía”**

Determinación de los niveles de calcio sérico en pacientes con Dengue y su correlación con la gravedad de la enfermedad en el Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello (HEODRA) en el periodo 2022.

**Autores:**

- Br. Itzell Celeste Zapata
- Br. María Gabriela Zelaya Aróztegui

**Tutor:** Dr. Norlando José Chávez Durón

Decano Facultad de Ciencias Médicas

UNAN – León

Médico Internista – Infectólogo

**Asesor Metodológico:** Lic. Jefferson Campos Téllez

Profesor de Departamento de Ciencias Fisiológicas – Sección Bioquímica

León, Nicaragua 2023

**“TODAS Y TODOS JUNTOS VAMOS ADELANTE”**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA**

**Facultad de Ciencias Médicas**

**UNAN - León**



Monografía para optar al Título de:

**“Doctor en Medicina y Cirugía”**

Determinación de los niveles de calcio sérico en pacientes con Dengue y su correlación con la gravedad de la enfermedad en el Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Argüello (HEODRA) en el periodo 2022.

**Autores:**

- Br. Itzell Celeste Zapata
- Br. María Gabriela Zelaya Aróztegui

**Tutor:** Dr. Norlando José Chávez Durón

Decano Facultad de Ciencias Médicas

UNAN – León

Médico Internista – Infectólogo

**Asesor Metodológico:** Lic. Jefferson Campos Téllez

Profesor de Departamento de Ciencias Fisiológicas – Sección Bioquímica

León, Nicaragua 2023

**“TODAS Y TODOS JUNTOS VAMOS ADELANTE”**

## **Dedicatoria**

A Dios, por habernos brindado sabiduría para salir adelante.

Querido maestros y amigos,

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

A nuestros maestros, quienes han sido guías y mentores a lo largo de esta travesía académica, les agradecemos 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 nuestros familiares, por su amor incondicional y su apoyo constante a lo largo de todos estos años.

## **Agradecimientos**

Queremos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todas las personas que han contribuido de manera significativa en la realización de esta tesis. A ustedes nuestro más profundo respeto:

A nuestro tutor de tesis Dr. Norlando Chávez Durón, 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 Lic. Jefferson Campos Téllez por su tiempo al apoyarnos en los análisis de muestras.

Al Departamento de Microbiología y Parasitología por su invaluable contribución a nuestra tesis, su ayuda en la preparación de muestras ha facilitado enormemente el desarrollo de nuestra investigación.

A las autoridades de UNAN – León, por permitirnos realizar nuestro estudio y brindarnos apoyo en toda la trayectoria de este largo proceso.

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

A cada uno de ustedes nuestro más sincero agradecimiento.

## Resumen

### **Determinación de los niveles de calcio sérico en pacientes con Dengue y su correlación con la gravedad de la enfermedad en el Hospital Escuela Óscar Danilo Rosales Arguello (HEODRA) en el periodo 2022.**

**Introducción:** El dengue es una enfermedad viral prevalente a nivel mundial, los casos notificados a la OMS han pasado de 505 430 a 5200 millones en 2019, es causas de alto porcentaje de morbilidad y mortalidad entre los pacientes de todas las edades. La alteración de los niveles de calcio (hipocalcemia) durante la infección por dengue se ha asociado como causa potencial de mortalidad. **Objetivo:** Determinar los niveles de calcio sérico en pacientes con Dengue y su correlación con la evolución de la enfermedad en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales en el periodo 2022. **Metodología:** a través de un estudio prospectivo correlacional, en pacientes febriles captados en el servicio de emergencia del HEODRA, se obtuvo información relacionada al cuadro febril, luego de la firma de los consentimientos informados, la infección por dengue se confirmó a través de pruebas moleculares la infección por el virus dengue y el serotipo infectante, se tomaron dos muestras sanguíneas; una durante la fase aguda y otra en la fase convaleciente, las cuales se utilizaron para determinar los niveles de calcio sérico e iónico. Utilizando análisis estadísticos se compararon las variables clínicas, se clasificó la severidad según la OMS (manual-2010) con los niveles de calcio. **Resultados:** un total de 43 pacientes con infección por DENV-4, fueron estudiados. El promedio de la edad de la población fue de 15 años (rango de 9-63años). Predomino el sexo masculino 67% y el 56% tenían educación secundaria (completa o no). A la fase aguda el 100% era febril, presentaron dolor de cabeza el 91%, escalofrío el 86% y dolor articular el 67%. En la fase convaleciente todos esos síntomas disminuyeron significativamente. El 95% de los pacientes se clasificaron como dengue sin signos de alarma. Las concentraciones del calcio total (sérico) e ionizado, fueron más bajos durante la fase febril en comparación a la fase de convalecencia ( $p < 0.05$ ). **Conclusión:** este estudio expone la posibilidad relación entre los niveles de calcio en sangre y la caracterización clínica de pacientes con dengue, sin embargo, análisis más profundos deben realizarse.

## Abreviaturas

---

<b>ADE</b>	Mejora dependiente de anticuerpos
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Calcio
<b>DENV</b>	Virus del Dengue
<b>DF</b>	Fiebre del Dengue
<b>DHF</b>	Dengue hemorrágico grave
<b>DSS</b>	Síndrome de shock por dengue
<b>DSSA</b>	Dengue sin signos de alarma
<b>DSCA</b>	Dengue con signos de alarma
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>RT-PCR</b>	PCR con transcriptasa reversa
<b>MINSA</b>	Ministerio de salud
<b>NS</b>	Proteína no estructural
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OPS</b>	Organización panamericana de la salud
<b>CDC</b>	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

---

# Índice

<b>1. Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b> .....	<b>3</b>
<b>3. Justificación</b> .....	<b>5</b>
<b>4. Planteamiento del Problema</b> .....	<b>6</b>
<b>5. Objetivos</b> .....	<b>7</b>
<b>5.1 Objetivo General</b> .....	<b>7</b>
<b>5.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>7</b>
<b>6. Marco Teórico</b> .....	<b>8</b>
<b>6.1 Epidemiología</b> .....	<b>8</b>
<b>6.2 Estructura y Clasificación del virus del dengue</b> .....	<b>11</b>
<b>6.3 Patogénesis del dengue</b> .....	<b>12</b>
<b>6.4 Calcio, canales, señalización intracelular y autoinmunidad</b> .....	<b>14</b>
<b>6.5 Características Clínicas</b> .....	<b>18</b>
<b>6.6 Diagnóstico diferencial del dengue</b> .....	<b>22</b>
<b>7. Material y Métodos</b> .....	<b>26</b>
<b>8. Resultados</b> .....	<b>36</b>
<b>9. Discusión de resultados</b> .....	<b>44</b>
<b>10. Conclusiones</b> .....	<b>48</b>
<b>11. Recomendaciones</b> .....	<b>49</b>
<b>12. Referencias bibliográficas</b> .....	<b>50</b>
<b>13. Apéndices</b> .....	<b>57</b>

## 1. Introducción

El virus del dengue (DENV) es un flavivirus potencialmente mortal transmitido 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)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera el dengue como un importante desafío de salud pública mundial en las naciones tropicales y subtropicales.(5) Por lo tanto, es una de las enfermedades tropicales desatendidas más importantes del mundo y su incidencia se ha multiplicado por más de 30 en las últimas décadas.(5,6) debido al aumento de la tasa de crecimiento demográfico, el calentamiento global, la urbanización no planificada, el control ineficiente de los mosquitos, los viajes aéreos frecuente en zonas endémicas y la falta de instalaciones de atención médica.(5,7,8)

EL DENV es un virus esférico y envuelto con una capa proteica externa bien organizada en la superficie de una bicapa lipídica y un núcleo de nucleocápside interno.(9) 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. .(10,11)

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 mejora dependiente de anticuerpos (ADE).(10,12) Además, se calcula que aproximadamente cien millones de personas padecen cada año la enfermedad de forma sintomática y tres cuartas partes de los 390 millones de infecciones por el virus del dengue (DENV) que se estima cada año son clínicamente inaparentes.(13,14)

Interesantemente se ha documentado hipocalcemia en la infección por dengue y se observa con mayor frecuencia en pacientes con dengue grave.(15,16). El mecanismo detrás del vínculo entre el dengue y los niveles bajos de calcio no se comprende bien. Sin embargo, se cree que el virus del dengue puede alterar la regulación normal del metabolismo del calcio en el cuerpo. Además, el virus del dengue también puede afectar directamente las células que regulan los niveles de calcio en el cuerpo, lo que provoca

una disminución de los niveles de calcio en la sangre.(17,18)

Es importante que los pacientes con dengue sean monitoreados por hipocalcemia y que los proveedores de atención médica estén conscientes del posible vínculo entre el dengue y los niveles bajos de calcio. Sin embargo, la evidencia sobre el papel de la homeostasis del calcio en el dengue es limitada y las recomendaciones actuales no mencionan la necesidad de monitorear o corregir los niveles de calcio en sangre en el dengue. Por lo tanto, este estudio contribuirá a la evidencia correlacional de la disminución de los niveles de calcio sérico en pacientes con infecciones con dengue con o sin sintomatología clínica.

## 2. Antecedentes

Se han realizado en las últimas décadas estudios enfocados en los niveles de calcio y su relación con la gravedad de la enfermedad de dengue. Estudios como Khwaja Nazim Uddin y colaboradores en el 2008 encontraron que la hipocalcemia se asocia comúnmente con el dengue y se correlaciona con la gravedad.(16)

Thanyanat Bunnag y colaboradores en el 2011 investigaron el Síndrome de shock por dengue en la sala de urgencias del Instituto Nacional de Salud Infantil Reina Sirikit, Bangkok, Tailandia encontrando que entre sus hallazgos más comunes la hipocalcemia se encontraba en los grupos fallecidos y recuperados por dengue (83,3 frente a 80%). Sin embargo, los niveles más bajos de calcio no han mostrado una asociación con la mortalidad.(19)

En el 2012 Seema Kapoor y Ankur Singh realizaron una serie de casos de dos niños con enfermedad del dengue en India, reportando que la tetania hipocalcemia es una complicación poco frecuente de la infección aguda por dengue. Sin embargo, no se encuentra asociación sobre la etiología y la etapa de progresión de la enfermedad en la que se produjo la hipocalcemia.(20)

Godwin R Constantine y colaboradores en el 2014 llevaron a cabo un estudio transversal en un hospital privado de atención terciaria en Sri Lanka, de lo cual encontraron que los niveles calcio sérico se correlacionaron significativamente con la gravedad del dengue. Además, los niveles de calcio séricos fueron significativamente más bajos y la hipocalcemia fue más prevalente en pacientes con dengue hemorrágico que en pacientes con dengue.(21)

Sheshan VS y colaboradores en el 2021 en Karnataka, India investigaron sobre la correlación de los niveles séricos de calcio con la severidad de la enfermedad del dengue, encontrando que, de los 100 pacientes involucrados en el estudio, 65 presentaban dengue sin complicaciones, mientras que 30 tenían dengue con síntomas de alarma y 5 presentaron dengue grave/síndrome de choque por dengue. La prueba de estadística ( $\chi^2$ ) mostró asociación estadísticamente significativa entre la gravedad del dengue y la

hipocalcemia ( $\chi^2= 94,08$ ;  $p=0,00$ ) así como también entre los niveles de calcio sérico y la frecuencia del pulso ( $\chi^2= 16,01$ ;  $p=0,00$ ).<sup>(17)</sup>

### 3. Justificación

La infección por el virus del dengue se ha convertido rápidamente en una problemática de salud pública, debido a que son infecciones causantes de enfermedades graves y ocasionalmente muerte en países endémicos. En las Américas los números de casos de dengue se ha incrementado en las últimas cuatro décadas, que va desde unos 1.5 millones de casos acumulados en la década del 80, hasta alcanzar unos 16.2 millones en la década del 2010 al 2019.

En Nicaragua desde el 2022 se ha observado un incremento sustancial de infecciones por dengue, solo en ese año hubo un acumulado de 97,541 contagios y este 2023 la tendencia es superar los 100,000 casos. El Minsa reporta entre 3,300 y 4,300 casos semanales en 2023, según los últimos boletines epidemiológicos, actualizados hasta la semana 26.

Además del aumento epidemiológico se ha observado que las infecciones de dengue tienen una tendencia a disminuir los niveles de calcio sérico en sangre lo que puede conllevar a un diagnóstico rutinario de infecciones graves del dengue como se ha visto en algunos estudios científicos

En Nicaragua aún no se han realizado estudios enfocados a la detección de calcio sérico y su relación en la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, con este estudio pretendemos Determinar los niveles de calcio en pacientes diagnosticados con dengue además de asociarlos al desarrollo de la enfermedad, también con los resultados generados en este estudio pretendemos que la detección de calcio sérico sea parte del diagnóstico rutinario como pronóstico de la enfermedad más grave y que sean considerados en los centros de salud y hospitales del país.

#### **4. Planteamiento del Problema**

¿Cuáles son los niveles de calcio en pacientes diagnosticados con Dengue y su correlación con el desarrollo de características clínicas severas de la enfermedad en el HEODRA en el periodo 2022?

## **5. Objetivos**

### **5.1 Objetivo General**

- Determinar los niveles de calcio sérico en pacientes con Dengue y su correlación con la evolución de la enfermedad en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales en el periodo 2022.

### **5.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar a los pacientes epidemiológica y clínicamente.
- Determinar la concentración sérica de calcio en fase febril y en fase de recuperación en los pacientes que forman parte del estudio
- Correlacionar las características clínicas de pacientes positivos con los niveles de calcio en fase febril y en fase de recuperación.

## 6. Marco Teórico

### 6.1 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.(22)

Lo que es aún más relevante, es que esta enfermedad ha sido clasificada como una "enfermedad tropical desatendida".(23) 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.(22,24) 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, y también afectan a viajeros de regiones endémicas. Además de los efectos en la salud pública, estas epidemias tienen un impacto económico masivo en los países afectados.(25)

**Dengue a nivel mundial:** El primer brote de dengue se reportó en 1779 en Yakarta, Indonesia y El Cairo.(26) Sin embargo, el primer brote confirmado en América del Norte, fue el brote de Filadelfia en 1780.(27) 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, Brasil fue el que presentó más casos con 1,5 millones de casos.(28)

Las epidemias de dengue fueron reportadas en África Oriental, Occidental y Meridional desde principios del siglo XIX.(29) 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).(7,30) 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(31). 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.(7,31) 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%).(10)

**Dengue en Nicaragua:** Nicaragua ha experimentado una transmisión endémica del virus del dengue (DENV) con múltiples serotipos desde 1985.(32) 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 fluctúan anualmente. Hiperendemicidad, donde múltiples serotipos co-circulan. En la misma temporada de transmisión, es cada vez más común.(33–36) 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.(37) 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. Desde entonces, el DENV ha permanecido hiperendémico en Nicaragua a pesar de los esfuerzos de control de vectores, causando brotes graves periódicos relacionados con la variación genética del virus que interactúa con el estado inmunológico del huésped.(36,38–40)

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 tan solo mediados de la década de 2000, lo que sugiere que se diversificaron al mismo tiempo.(41)

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.(42) DENV-2 en Nicaragua se encuentra dentro del genotipo asiático/americano, que ha dominado el paisaje nicaragüense desde 1999.(33,43) 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.(42,44) 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, lo que 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 de 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 de lo cual ya no se detectó. El DENV-3 que aísla Nicaragua se encuentra dentro del genotipo III (subcontinente indio), pero no ha seguido diversificándose en linajes estructurados.(41)

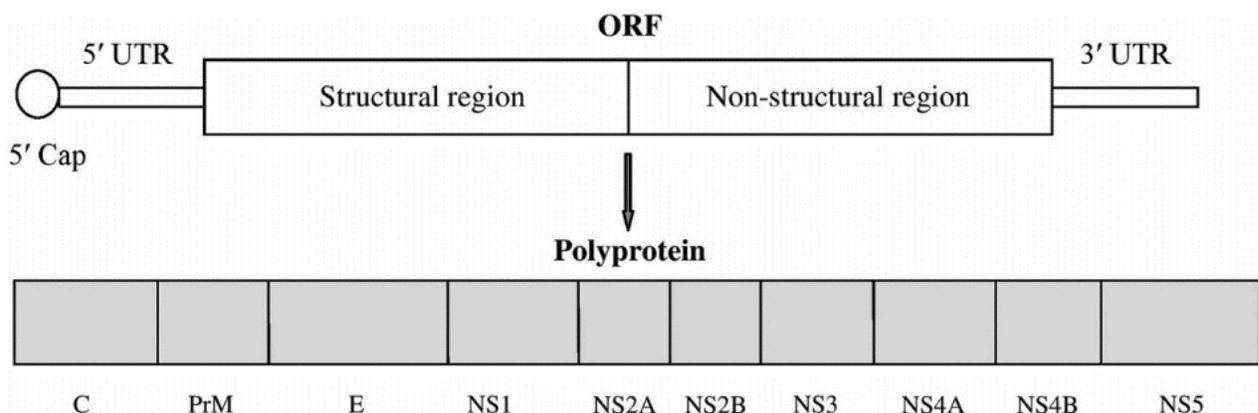
## 6.2 Estructura y Clasificación del virus del dengue

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.(7) 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 Y NS5.(9,45)

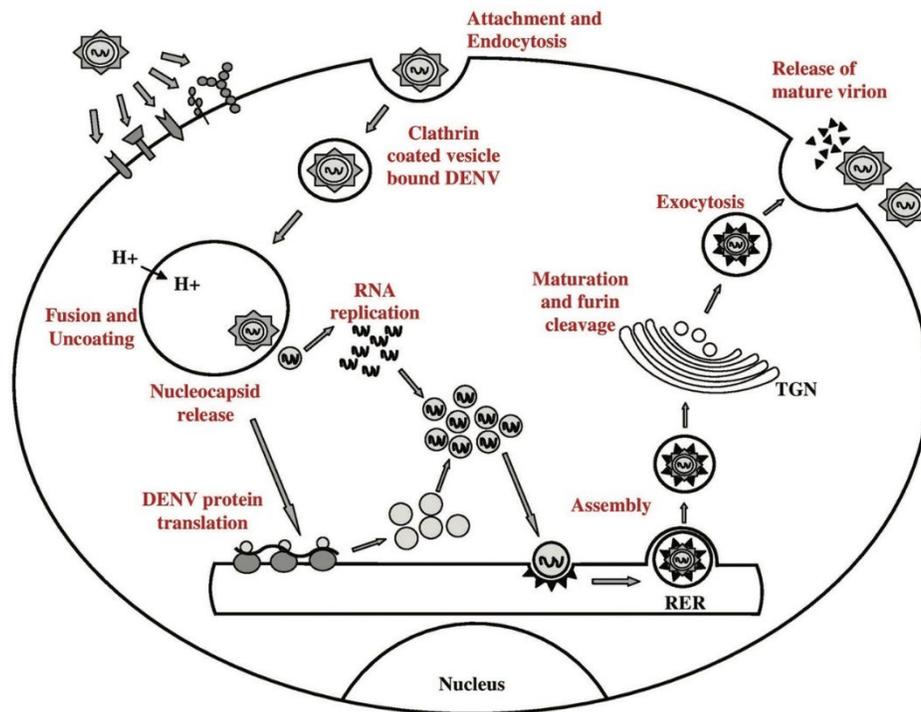
Las funciones de las proteínas no estructurales incluyen un ARN-dependiente de la ARN polimerasa (RdRp), metiltransferasa (NS5) y helicasa / proteasa (NS3). La región codificante está flanqueada por una 5'UTR (Región no traducida) de aproximadamente 98 nt y una 3'UTR de 388 – 462 nt.(46)

El extremo 5' del ARN está cubierto por una caperuza, y el extremo 3' carece de cola de poli A. En ambos extremos del genoma están presentes secuencias no codificadoras necesarias para los procesos de replicación, transcripción y traducción y a las cuales se asocia la posible estructura secundaria del genoma. El codón de iniciación se corresponde con AUG, que da inicio a 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. (10)

**Figura 1. Estructura genómica con secuencia poliproteica del virus del dengue.**



**Figura 2. Procesos paso a paso de entrada del virus del dengue en la célula huésped y su ciclo de vida**



- |   |                     |   |               |
|---|---------------------|---|---------------|
|  | Mannose receptor    |  | Mature DENV   |
|  | HSP90/70            |  | Nucleocapsid  |
|  | DC-SIGN             |  | Immature DENV |
|  | TIM/TAM             |  | Ribosome      |
|  | GAG Heparan sulfate |  | Pr Peptide    |

### 6.3 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 los genes de la secuencia B del complejo mayor de histocompatibilidad humano y de la fosfolipasa C épsilon 1 o la infección secundaria en forma de dos infecciones secuenciales por diferentes serotipos.(47)

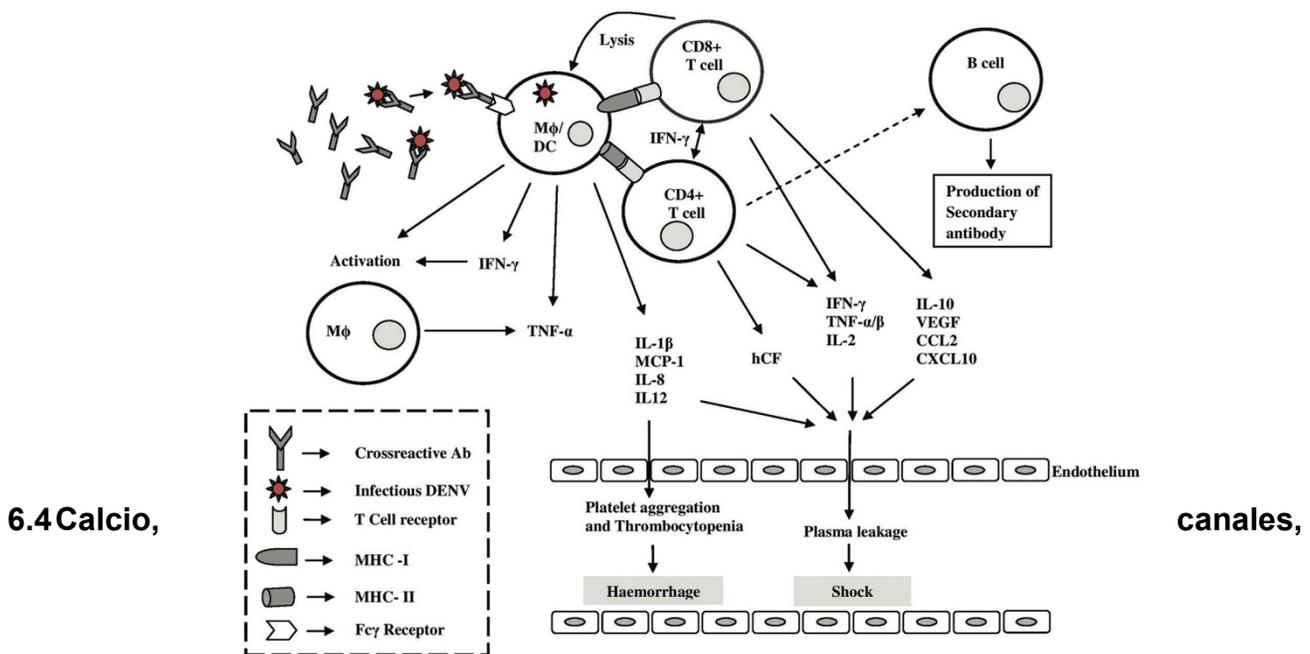
**Implicación de las células T en la patogénesis de la infección por DENV:** Si bien las células T CD8 tienen funciones críticas en la neutralización de los virus dañinos, también

han estado implicadas en la patogénesis de la infección por DENV. Las manifestaciones graves del dengue ocurren de 10 a 20 veces más altas en pacientes con infección secundaria por DENV, lo que sugiere que el cebado del sistema inmunológico adaptativo a un serotipo DENV aumenta el riesgo de gravedad durante la infección secundaria con diferentes serotipos(47,48). Además, 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.(48) La infección primaria por DENV induce la activación de células T CD8 ingenuas para diferenciarse en células T efectoras, que eliminarán la infección ya sea directamente al lisis de 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.(49–51) 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.(52)

**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 infusión viral después de la unión. Los anticuerpos neutralizantes se dirigen principalmente a la proteína de la envoltura (E) y están dirigidos contra casi todos los epítomos.(53) 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 mejora dependiente de anticuerpos (ADE) de la infección.(54) El fenómeno de la ADE contribuye a la forma grave

de la enfermedad y podría clasificarse como un tipo de inmunopatología. En el ADE de infección, los anticuerpos preexistentes producidos a partir de una infección anterior por DENV se unen a otra partícula de infección por DENV en una infección posterior con diferentes serotipos de DENV(55). Los anticuerpos de la infección anterior no son eficientes para neutralizar el virus en la infección secundaria. Más bien, el complejo anticuerpo-virus se une al receptor Fcγ presente en los monocitos circulantes y causa infección en los monocitos, 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.(56,57)

**Figura 3. La mejora dependiente de anticuerpos (ADE) provoca una fuga de plasma grave.**



El calcio (Ca<sup>2+</sup>) 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  $\text{Ca}^{2+}$  van a determinar el tipo y la duración de sus efectos en la señalización intracelular. (58)

**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- $\gamma$  (PLC $\gamma$ 1 en linfocitos T y PLC $\gamma$ 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). (59)

El IP3 se desplaza entonces y se une a su receptor ubicado en la membrana del retículo endoplásmico (RE), causando la salida del  $\text{Ca}^{2+}$  almacenado en su interior y la activación de otras señales intracelulares. Sin embargo, el agotamiento rápido del  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$ , denominada SOCE, la cual fue recientemente descubierta por búsquedas a gran escala de ARN de interferencia.(60) La SOCE actúa a través de canales CRAC y su mecanismo de activación depende de la interacción de 2 moléculas reguladoras:

– Un sensor del  $\text{Ca}^{2+}$  en el RE o molécula de interacción estromal (STIM-1, del inglés stromal interaction molecule).– Una subunidad poro del canal CRAC.(59,60)

**Activación de vías de señalización posterior al influjo de calcio:** Una vez se logra incrementar el nivel de  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  —calmodulina (CaMK), que tiene como factores de transcripción la proteína unida al elemento de respuesta al monofosfato de adenosina cíclico (CREB) el factor aumentador del miocito 2.

– La vía del factor nuclear  $\text{kB}$  (NF- $\text{kB}$ )

Al momento de la hidrólisis del PIP<sub>2</sub>, también se obtiene DAG, el cual a su vez puede activar 2 vías adicionales de señalización: Vía de la proteína cinasa y PKC.(61–63)

**Hipocalcemia en el dengue:** La hipocalcemia se ha demostrado en otras enfermedades tropicales, como la leptospirosis y el paludismo, y 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.(64) Se han sugerido varias causas para los niveles bajos de calcio en la sangre, incluida la actividad reducida de la trifosfatasa de adenosina (ATPasa)  $\text{Na}^{+}$ -K, la actividad reducida de la ATPasa de  $\text{Ca}^{2+}$ , la deficiencia adquirida de la hormona paratiroidea, la insuficiencia renal de una alfa hidroxilasa y la ingesta reducida 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.(19,20,65)

**El posible papel del calcio en la inmunopatogénesis del dengue:** En estudios in vitro, se demostró que la depleción de  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  mejora la unión del virus del dengue a los monocitos, macrófagos y células de los linajes de células T y B.(66) Se ha demostrado que el  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.(67,68) El  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  en las células T. La proliferación de células T colaboradoras específicas del dengue parece depender del  $\text{Ca}^{2+}$  y se inhibe en ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  y por fármacos antagonistas de los canales de

calcio.(69) 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.(70) 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.(15)

**El papel potencial del calcio en el tratamiento del dengue:** El calcio es necesario para la agregación plaquetaria, aunque se desconoce su función precisa.(71,72) En una serie de casos de solo 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. condición y recuento de plaquetas. 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.(73) En un estudio de casos y controles de 10 pacientes con características clínicas de dengue en cada brazo, 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 defervescencia y 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.(74)

## 6.5 Características Clínicas

La clasificación recomendada por la Organización Mundial de la Salud, 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.(75)

*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(76,77) :

- 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.(78) 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 ( $\geq 3$  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.

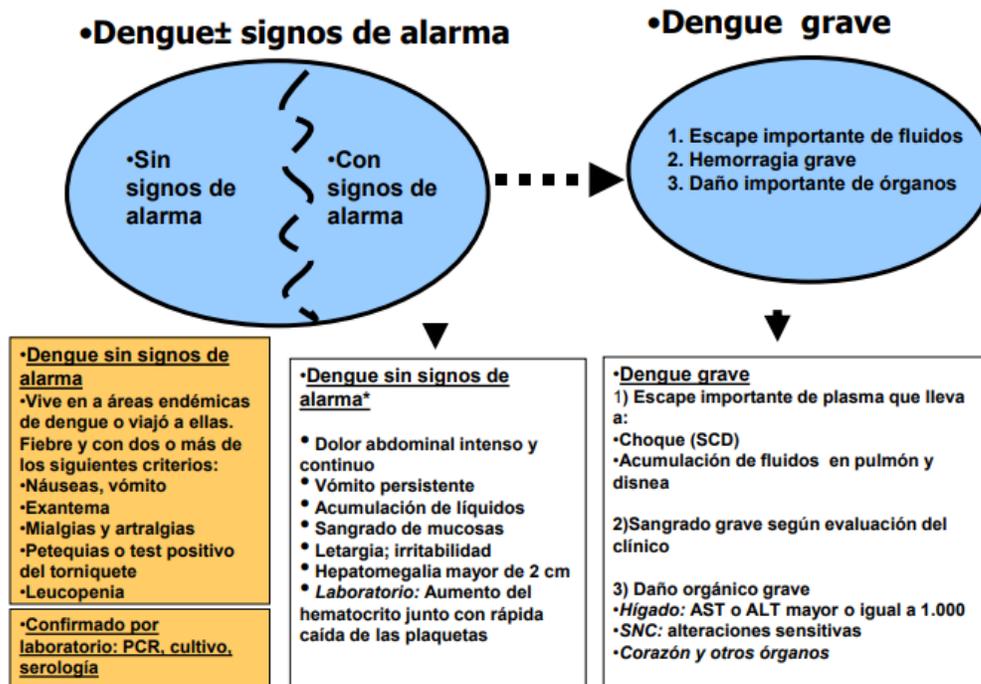
Este a su vez se divide en B1 y B2. El B1 es Dengue sin signos de alarma con circulación estable, pero que presenta comorbilidad(es) o riesgo social. El B2 es Dengue con signos de alarma, hemodinámicamente estable y presente  $\geq 1$  de los signos o síntomas cerca de la caída o en la caída de la fiebre.(78,79)

*Dengue Grave:* Presenta alteración de los parámetros hemodinámicos ya sea en fase de choque inicial o hipotensivo.(80)

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  $\leq 20$  mmHg, piel moteada.
- Sangrado considerado clínicamente importante (Melena, hematemesis, metrorragia voluminosa).
- Compromiso grave de órganos (miocarditis, hepatitis, encefalitis).
- Daño hepático: AST O ALT  $\geq 1000$ UI.
- Sistema nervioso central: alteración de la conciencia
- Corazón: miocarditis

Figura 4. Clasificación del dengue



### 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.(11)

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.(11,79)

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.(79)

**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.(11,22)

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.(11)

El choque ocurre cuando hay perdida en gran cantidad 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.(11,22)

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.(11)

**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.(11)

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.(11)

La dificultad respiratoria, el derrame pleural y la ascitis pueden persistir si la administración de líquidos es excesiva puede dar lugar a un edema pulmonar o insuficiencia cardiaca congestiva si el balance acumulado es mayor del 5%.(11)

**Cuadro 1. Problemas clínicos de las fases febril, crítica y de recuperación del Dengue.**

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 cardiaca.

**6.6 Diagnóstico diferencial del dengue**

Al inicio de la enfermedad el Dengue no se puede distinguir de otras infecciones víricas, bacterianas o protozoarias. Es por esto que 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.(79)

Se debe considerar como diagnóstico diferencial infección por Malaria a todo paciente febril y enviar Gota Gruesa.(79)

**Cuadro 2. Diagnostico diferencial del dengue frente a otros arbovirus**

<b>Signos y síntomas</b>	<b>Dengue</b>	<b>Chikungunya</b>	<b>Zika</b>
Motivo de consulta más frecuente	Fiebre, mialgias	Dolor articular, fiebre	Exantema o prurito
Fiebre	Moderada Muy frecuente Duración: 4-6 días	Intensa Muy frecuente Duración:3-5 días	Leve Muy poco frecuente 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 Céfalo-caudal
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
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
---------------------------------	------------------	--	--

## 7. Material y Métodos

**Tipo de Estudio:** Prospectivo Correlacional

**Periodo del estudio:** Año 2022

**Población de Estudio:** Está 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 Infecciones Febriles Agudas (AFI) de la UNAN-LEON, donde se determina 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.

**Muestras de estudio:** Un total de 43 pacientes con diagnóstico confirmado de infección por dengue que sean parte del estudio AFI.

**Muestreo:** Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, se revisaron los expedientes de los pacientes en el estudio AFI y se eligieron aquellos que cumplan los criterios de inclusión. Todos los pacientes incluidos en este estudio deben tener una muestra sanguínea durante la fase aguda y convaleciente que son aproximadamente 28 días post infección.

### **Criterios de inclusión:**

Se incluyeron todos los pacientes mayores de 1 año y que fueron confirmados 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.

### **Criterios de Exclusión:**

Se excluyó todo aquel paciente cuyo expediente o ficha recolectada se encuentre incompleta, o que no tenga las muestras sanguíneas en fase aguda y de recuperación.

Todo paciente que realizará algún viaje fuera de León, en los próximos 30 días después del inicio de síntomas. Si les han realizado algún tipo de Cirugía en los últimos 7 días o si presenta algún tipo de incapacidad física, mental o emocional para dar su consentimiento.

Se excluyeron también si padecen alguna alteración hematológica, que dificulte la toma de la muestra en el laboratorio de la Unidad de Salud donde se lleva a cabo el estudio.

### **Muestreo y recolección de la información**

#### **Recolección de la información:**

**Obtención y conservación de la muestra:** a continuación, se describe el procedimiento utilizado en el estudio AFI para la toma de muestras biológicas: luego de que hayan aceptado participar y llenado la ficha 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 codenn refrigerantes para mantener una temperatura entre 4-8 °C hasta el momento del análisis; una vez en el laboratorio, la muestra sanguínea será centrifugada a 3,000 rpm por 5 minutos para obtener el plasma y el paquete globular. Una vez separados, los plasmas se transferirán a cryoviales para ser guardadas a -20 °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)  $\leq 38$ . 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  $\mu$ l de ADNc, 1  $\mu$ l (10 pmol) de cada cebador directo e inverso (D1, TS1, TS2, TS3 y TS4), 19  $\mu$ 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.

**Determinación de calcio sérico:** Los valores de calcio sérico se determinaron por la técnica de espectrofotometría UV-Visible utilizando kits comerciales, los cuales se basan en medir el calcio cuando esta forma complejos con la o-cresolftaleina complexona, generando un color violeta que es directamente proporcional a la concentración de calcio en la muestra. 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.

### **Análisis Estadístico**

Los datos de laboratorio y de la ficha epidemiológica fueron introducidos en una base de datos diseñada en el programa SPSS, Inc. Chicago IL. (Statistical Package for the Social Sciences) versión 21.0

Las características demográficas de los pacientes se determinaron mediante el uso de pruebas t para las variables continuas, las pruebas de ji cuadrado para las variables categóricas y las pruebas exactas de Fisher para las variables categóricas con datos escasos. El grado de correlación se determinó mediante un análisis multivariado, los

índices de riesgo y los intervalos de confianza de Wald del 95% fueron utilizados para evaluar riesgo tomando en cuenta un valor de  $p < 0.05$ .

### **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 explico los objetivos del estudio y se les solicito 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	Numérico
Sexo	condición física que distingue hombres y mujeres		Fenotipo	Masculino Femenino
Procedencia	Lugar de origen	Espacial	Área	Urbana Rural
Ocupación	Actividad o trabajo que realiza la persona encuestada.	Trabajo	Tipo	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
Escolaridad	Nivel de educación más alto que una	Educación		Preescolar completo Preescolar incompleto Primaria incompleta

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

<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor</b>
	Irritación de la garganta que a menudo empeora al tragar	Dolor de garganta	Presencia	Si No No sabe
	Dificultad respiratoria o falta de aire	Disnea	Presencia	Si No No sabe
	Expulsión violenta por la boca de lo que está contenido en el estómago	Vómito	Presencia	Si No No sabe
	Tres o mas evacuaciones intestinales líquidas en 24 horas	Diarrea	Presencia	Si No No sabe
	Dolor continuo en el abdomen	Dolor abdominal	Presencia	Si No No sabe
	Sensación dolorosa al orinar	Dolor al orinar	Presencia	Si No No sabe
	Cantidad de orina menor a lo normal	Disminución de la orina	Presencia	Si No No sabe
	Dolor opresivo en perímetro del cráneo	Dolor de cabeza	Presencia	Si No No sabe
	Estado de somnolencia anormal	Letargia	Presencia	Si No No sabe
	Alteración repentina e incontrolada de la	Convulsiones	Presencia	Si No No sabe

<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor</b>
	actividad eléctrica del cerebro			
	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 inmunológico por extrema sensibilidad del organismo	Alergias	Presencia	Si No No sabe
	Inflamación o infección de la conjuntiva	Conjuntivitis	Presencia	Si No No sabe
	Dolor alrededor o detrás del ojo	Dolor retro orbital	Presencia	Si No No sabe
	Afección que puede aparecer en cualquier parte del oído ya sea inflamación por infección	Dolor de oído	Presencia	Si No No sabe
	Cuando no es capaz de oír tan bien como una persona cuyo	Sordera	Presencia	Si No No sabe

<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor</b>
	sentido del 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	Ca <sup>++</sup> = PI (6x Ca)-3 (PT+6)= mg/dL	Numérico en mg/dl
Calcio sérico	Concentración del ion calcio en suero	Concentración de calcio	Resultado de laboratorio	Numérico en mg/dl Los valores normales van de 8.5 a 10.5 mg/dL
Hematocrito	Indicador que determina el grado de anemia según la OMS.	Microcentrifugación	Resultado de laboratorio	M: 36 a 45% <36%: >45% H: 40 a 50% <40% : >50%
Hemoglobina	Indicador que determina la anemia o Nivel de oxígeno que es transportado a nuestro cuerpo.	Calculo: Hematocrito/3	Resultado de laboratorio	Hombre: 13.8 a 17.2 (g/dL) <13.8(g/L) >17.2(g/L) Mujer: 12.1 a 15.1 g/dL <12.1(g/dL) >15.1(g/dL)
Glóbulos Blancos	Indicador de infecciones	Conteo de Glóbulos Blancos en cámara hemática.	Resultado de laboratorio	<5,000Leucopenia >10,000Leucocitosis

<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensión</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor</b>
	producidas por gérmenes.			
Glóbulos Rojos	Indicador que determina el nivel de oxígeno u enfermedades Renales.	Conteo de Glóbulos rojos en cámara hemática	Resultado de laboratorio	Mujeres: 4.2 a 5.4 mcl <4.2 mcl >5.4 mcl Hombres: 4.7 a 6.1 mcl <4.7 mcl >6.1 mcl
Hipocalcemia Ca ionizado	Concentración del Ion calcio en suero	Concentración de calcio iónico en suero	Resultado de laboratorio	< 4.8 > 4.8 Valor de referencia 4.8 a 5.3 (mg/dL)

## 8. Resultados

El presente estudio caracterizó clínicamente a pacientes que fueron diagnosticados con dengue utilizando métodos moleculares y asoció los niveles de calcio sérico/iónico con la severidad de la enfermedad durante la fase aguda y convaleciente (28 días después del inicio de síntomas clínicos), procedentes de la ciudad de León y atendidos en el HEODRA, que participaban del estudio AFI (estudio de fiebre aguda).

**Distribución de las características demográficas de los participantes:** En total se estudiaron 43 pacientes con dengue en el periodo de estudio (2022), en su mayoría los participantes se encontraban en el grupo de 13 a 15 años (28%), la mediana de edad fue de 15 años (Q1 = 13 años – Q3 = 27 años), los hombres representaron el 67% de la población y el nivel de escolaridad secundaria (incompleta o n) represento el 56%; al cuestionar sobre la ocupación el 63% eran estudiantes. (Tabla 1).

**Tabla 1. Características sociodemográficas de la población en estudio.**

		Frecuencia	Porcentaje
Grupos de edad	9 a 12	11	26
	13 a 15	12	28
	16 a 26	9	21
	27 a 63	11	26
Sexo	Femenino	14	33
	Masculino	29	67
Escolaridad	Analfabeto	1	2
	Primaria completa	6	14
	Primaria incompleta	5	12
	Secundaria completa	3	7
	Secundaria incompleta	21	49
	Universitario completo	5	12
	Universitario incompleto	2	5
Ocupación	Ama de casa	3	7
	Estudiante	27	63

Obrero industrial	3	7
Oficina/maestro/trabajador de la salud	2	5
Vendedor ambulante	2	5
Pensionado	1	2
Otros	5	12

Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

**Caracterización clínica de los pacientes en estudio:** del 100% de pacientes con dengue, el 5% (n=2) fueron clasificados según criterios establecidos por la OMS (Manual 2010) como dengue con signos de alarma, todos los casos de dengue fueron serotipados como dengue 4.

La caracterización clínica de la fase aguda (febril) se muestra en la tabla 2; los cuatro síntomas más frecuentes fueron: fiebre (100%), dolor de cabeza (91%), escalofrío (86%) y dolor articular (67%). En la fase convaleciente todos los síntomas disminuyeron, y la frecuencia de padecimiento de estos se redujo significativamente con valores que van del 2% al 9% de los síntomas reportados inicialmente. (Tabla 2).

**Tabla 2. Síntomas y signos presentes en las fases agudas y convalecientes en la población en estudio.**

	Fase aguda (febril)		Fase convaleciente	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Fiebre	43	<b>100</b>	1	2
Escalofrío	37	<b>86</b>	0	0
Rinorrea	6	14	2	5
Tos seca	3	7	0	0
Tos productiva	2	5	0	0
Dolor de garganta	8	19	0	0
Disnea	2	5	0	0
Vómito	7	16	1	2

Diarrea	5	12	1	2
Dolor abdominal	11	26	4	9
Dolor al orinar	3	7	0	0
Disminución de la orina	3	7	0	0
Dolor de cabeza	39	<b>91</b>	1	2
Letargia	5	12	0	0
Dolor articular	29	<b>67</b>	0	0
Dolor muscular	27	<b>63</b>	0	0
Rash	6	14	0	0
Alergias	1	2	0	0
Dolor retro orbital	20	<b>47</b>	0	0
Perdida del gusto	1	2	0	0
Conjuntivitis	0	0	0	0
Pérdida de peso	0	0	0	0
Espujo sanguinolento	0	0	0	0
Convulsiones	0	0	0	0
Pérdida del olfato	0	0	0	0
Dolor de oído	0	0	0	0
Sordera	0	0	0	0
Epistaxis	0	0	0	0

Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

**Determinación de los niveles de calcio sérico y calcio iónico en las muestras agudas y convalecientes:** la tabla 3 muestra la media y desviación estándar de las concentraciones del calcio total e ionizado, se observan valores más bajos durante la fase febril en comparación a la fase de convalecencia ( $p < 0.05$ ). Las diferencias entre los promedios de calcio total e ionizado fueron: 1.56 mg/dl y 0.7 mg/dl respectivamente. También se observó que la media del calcio ionizado en los pacientes febriles fue menor al valor de referencia (4.8 a 5.3 (mg/dl)), pudiéndose caracterizar como hipocalcemia. A la fase convaleciente los niveles de calcio aumentaron al valor de referencia ( $p < 0.05$ ) diferencias estadísticamente significativas entre ambas fases del desarrollo del dengue.

**Tabla 3. Concentración de Calcio según fases de la evolución del dengue.**

Tipos de Calcio	Fase aguda (febril)	Fase convaleciente	P
	Promedio (DE)	Promedio (DE)	
Calcio Total (mg/dl)	10.55 (1.91)	12.11 (2.89)	0.003
Calcio ionizado (mg/dl)	4.44 (0.82)	5.14 (1.58)	0.012

Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

**Evaluación los niveles de calcio y su relación con los síntomas clínicos más prevalentes en los pacientes:** Los calcios totales y el ionizados mostraron disminución de sus valores promedios en la fase aguda en comparación con la convaleciente, en los pacientes que mostraron presencia de síntomas en la etapa febril en: escalofríos, dolores de cabeza, articular y muscular. Todos estos cambios fueron estadísticamente significativos a excepción la concentración del calcio ionizado en los pacientes que mostraron dolores articular y muscular donde no se observaron cambios estadísticamente significativos (Tabla 4).

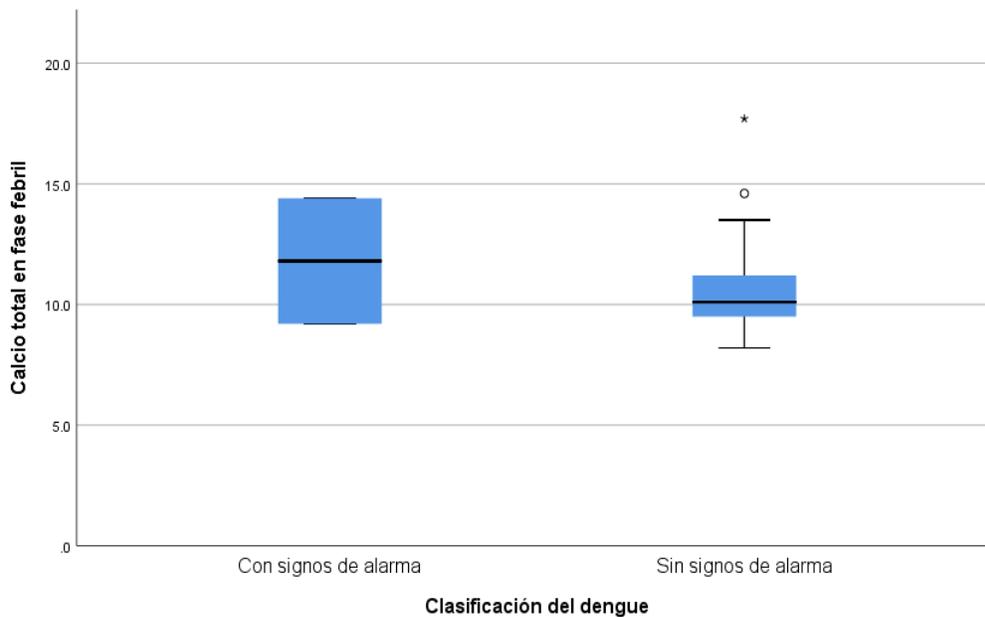
**Tabla 4. Concentración de los niveles de calcio según fases de evolución del dengue y síntomas clínicos más frecuentes en la fase aguda (febril) de la enfermedad.**

Síntomas presentes con mayor frecuencia	Calcio Total (mg/dl)		P	Calcio ionizado (mg/dl)		p
	Fase aguda (febril)	Fase convaleciente		Fase aguda (febril)	Fase convaleciente	
	Promedio (DE)	Promedio (DE)		Promedio (DE)	Promedio (DE)	
Escalofrío (n=37)	10.30 (1.47)	12.27 (2.98)	0.001	4.39 (0.66)	5.12 (1.60)	0.023
Dolor de cabeza (n=39)	10.55 (1.99)	12.19 (2.30)	0.004	4.42 (0.85)	5.18 (1.64)	0.012
Dolor articular (n=29)	10.49 (1.48)	12.11 (2.95)	0.010	4.52 (0.63)	4.94 (0.99)	0.062
Dolor muscular (n=27)	10.50 (1.57)	11.81 (3.00)	0.035	4.45 (0.66)	4.83 (0.96)	0.113

Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

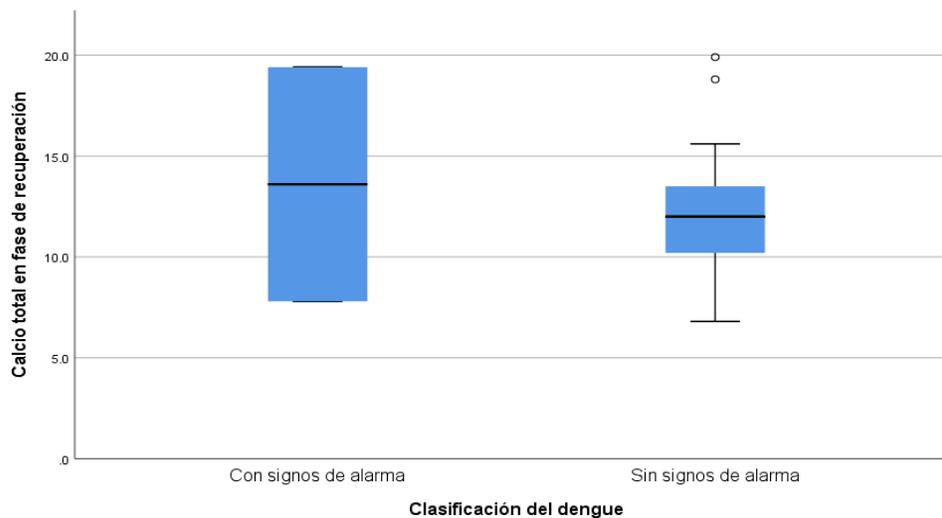
**La comparar el calcio total (mg/dl) en las fases febriles y de recuperación según la clasificación del dengue:** los gráficos del 1-4 muestran un leve aumento en la concentración de calcio en los pacientes con signos de alarma (2 pacientes) en comparación con los que no lo tenían (41 pacientes); estas medianas fueron de 11.8 versus 10.1 en fase febril y 13.6 contra 12.0 en la otra etapa (Gráficos 1 y 2). Sin embargo, el calcio ionizado (mg/dl) mostro una mediana menor de 3.75 versus 4.3 en febriles, comportamiento que no fue similar en la fase de recuperación; las medianas fueron de 8.25 contra 4.8 (Gráficos 3 y 4). Ninguna de estas comparaciones fue estadísticamente significativa.

**Gráfico 1. Concentración de Calcio total (mg/dl) en fase aguda (febril) según clasificación del dengue.**



P de la prueba de U de Mann-Whitney = 0.678.  
 Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

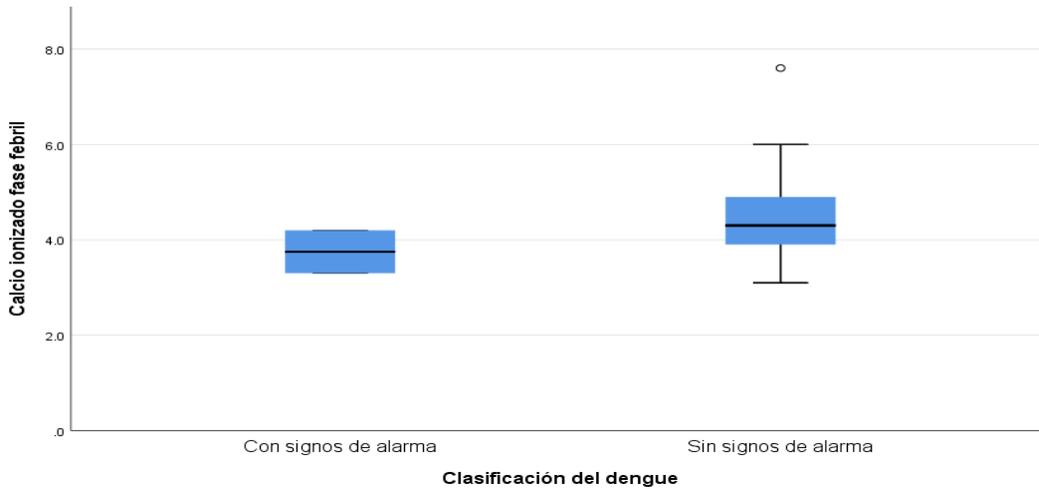
**Gráfico 2. Concentración de Calcio total (mg/dl) en fase de recuperación según clasificación del dengue.**



prueba de U de Mann-Whitney = 1.000  
 Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

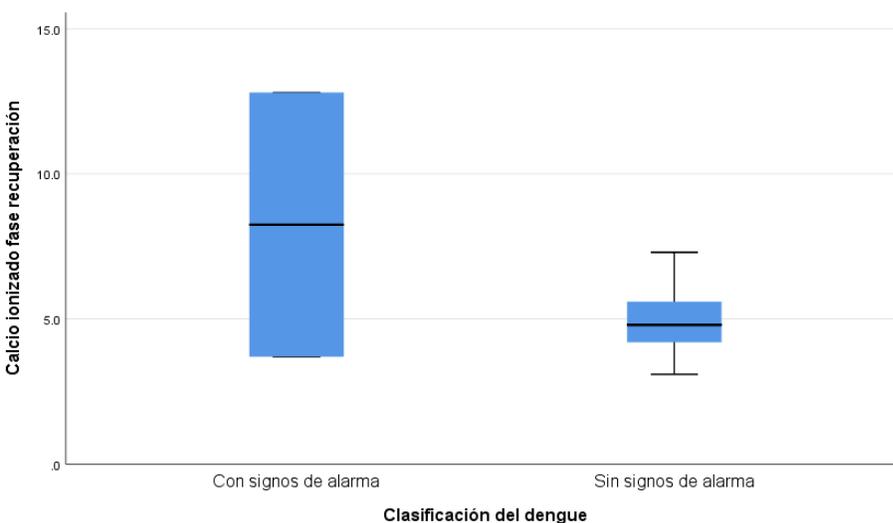
P de la

**Gráfico 3. Concentración de Calcio ionizado (mg/dl) en fase aguda (febril) según clasificación del dengue.**



P de la prueba de U de Mann-Whitney = 0.179  
Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

**Gráfico 4. Concentración de Calcio ionizado (mg/dl) en fase de recuperación según clasificación del dengue.**



P de la prueba de U de Mann-Whitney = 0.800.  
Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

**Caracterización clínica de los niveles de calcio:** El 72% (n=31) de los pacientes tenían hipocalcemia en la fase febril según el calcio ionizado, este porcentaje bajó a 47% (n=20) en la fase de recuperación. Al relacionar la presencia de esta enfermedad con el hematocrito, hemoglobina y los glóbulos rojos y blancos, estos no mostraron una relación estadísticamente significativa. Sin embargo, en la fase febril se observó que entre los valores normales de esos parámetros había mayor presencia de hipocalcemia (Tabla 5).

**Tabla 5. Hipocalcemia según parámetros clínicos en las fases febril y de recuperación.**

	Hipocalcemia Ca ionizado fase aguda (febril)					p	Hipocalcemia Ca ionizado fase recuperación					p
	Si		No		p		Si		No		p	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%			Frecuencia	%	Frecuencia	%		
<b>Hematocrito</b>												
Bajo	13	42	3	25	0.576	7	35	15	65	0.159		
Normal	16	52	8	67		11	55	7	30			
Alto	2	6	1	8		2	10	1	4			
<b>Hemoglobina</b>												
Bajo	15	48	8	67	0.636	8	40	16	70	0.052		
Normal	15	48	4	33		12	60	7	30			
Alto	1	3	0	0		0	0	0	0			
<b>Glóbulos rojos</b>												
Bajo	10	32	5	42	0.723	6	30	10	43	0.362		
Normal	21	68	7	58		14	70	13	57			
Alto	0	0	0	0		0	0	0	0			
<b>Glóbulos blancos</b>												
Leucopenia	13	42	5	42	0.087	4	20	2	9	0.446		
Normal	17	55	4	33		15	75	18	78			
Leucocitosis	1	3	3	25		1	5	3	13			
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>100</b>	<b>12</b>	<b>100</b>		<b>20</b>	<b>100</b>	<b>23</b>	<b>100</b>			

Fuente: Proyecto Agudas AFI de la UNAN-LEON.

## 9. Discusión de resultados

El dengue es una enfermedad con síntomas clínicos variables que van desde una fiebre leve a una fiebre incapacitante, afecta a personas de todas las edades, en algunos casos requiere de hospitalización y puede poner la vida en peligro; principalmente en niños y grupos vulnerables. El presente estudio investiga las características clínicas de 43 pacientes diagnosticados con dengue (DENV-4: serotipo 4), las concentraciones de calcio sérico y la correlación entre los niveles de calcio sérico y la sintomatología clínica de la enfermedad por dengue, así como, las características demográficas de los sujetos.

La edad promedio de los participantes fue de 15 años, más del 65% hombre y un poco más de la mitad (56%) tenían un nivel escolar de secundaria. Sheshan VS, y colaboradores analizaron la hipocalcemia en la infección por dengue, su población estaba conformada por sujetos entre 18 años hasta 60 años, la edad media de los sujetos fue  $29,08 \pm 9,422$  años. De 100 sujetos, el 46% de los sujetos tenían entre 18 y 25 años, seguido de 33 sujetos entre 26 y 35 años. Datos similares a los nuestros donde aproximadamente el 30% de la población estaba entre los 13-15 años.

También indican que su población de estudio fue predominantemente masculina, el 72% de la población de estudio eran hombres en comparación con el 28% de mujeres, similar a nuestros datos donde el 65% de la población fue masculina. Al realizar un muestreo por conveniencia e incluir todos los casos positivos la selección de igual número de sujetos hombre y mujeres no es posible (sesgo de selección), también el pequeño tamaño de la muestra puede afectar las frecuencias de estas variables. Gulshan Kumar y colaboradores (81) difieren de nuestros datos en la edad, pero son similares en la distribución por sexo, ellos encontraron que, en su estudio de correlación entre los niveles de calcio y la severidad por dengue, la edad media fue de 27 años con una proporción entre hombres y mujeres de aproximadamente 3:2.

La caracterización de los síntomas clínicos fue a como era de esperarse más frecuentes durante la fase aguda en nuestro estudio, Laura Lizeth Luengas y colaboradores (82) caracterizaron el estado de salud de personas con dengue, determinaron que la fatiga

fue la variable más relacionada en el 34,4 % (IC95% 17,0-51,8) de los pacientes. El 5% de nuestra población fue clasificada como dengue con signos de alarma (manual OMS-2010); datos diferentes a los reportados por David Caballero, donde en su estudio la mitad de la población (58%) corresponde a los casos sin signos de alarma, seguido por los pacientes con signos de alarma (33%), estos dos grupos fueron agrupados como no graves y menor porcentaje con el 9% los graves. (83). Sheshan VS, y colaboradores tenían entre la población de estudio, más de la mitad de los sujetos con dengue (n=65 pacientes), mientras que 30 sujetos tenían dengue con signos de alerta y solo 5 sujetos tenían síndrome de shock por dengue.

Las determinaciones de los niveles de calcio en la población muestran concentraciones más bajas durante la fase aguda en comparación a la fase convaleciente ( $p < 0.05$ ); Godwin R Constantine y colaboradores investigaron la asociación entre niveles de calcio y severidad por dengue, sus resultados indican que el calcio libre en suero (n=107 pacientes) el nivel de calcio fue 1,05mmol/L (rango 0,77–1,24), y fue significativamente mayor en pacientes con fiebre por dengue (1,09 mmol/L) en comparación con aquellos con dengue hemorrágico (1,02 mmol/L) ( $p < 0,05$ ). Datos similares a los nuestro son reportados por Katrina Mariz G. Domingo y cols, en una revisión de la literatura sobre niveles de calcio y dengue, indicando que los niveles séricos medios de calcio total e ionizado de los pacientes fueron disminuyó entre el grupo de dengue grave. (84). Nuestros resultados son relevantes ya que apoyan las hipótesis donde se indica que la hipocalcemia puede estar relacionado a la gravedad de la enfermedad por dengue, y puede ser una herramienta útil para predecir el dengue grave, aunque, son necesarios más estudios para dar respuesta clara a esta hipótesis. Thanyanat Bunnag y colaboradores (2011) encontraron que la hipocalcemia se encontraba en los grupos fallecidos y recuperados por dengue (83,3 frente a 80%) en el servicio de emergencias de un hospital en Tailandia.

Se sabe que el calcio se transporta unido a la albúmina sérica; por lo tanto, está influenciado directamente por esta, en infecciones por dengue se ha señalado que niveles bajos de calcio en sangre puede asociarse a formas más graves de la enfermedad,

aunque el papel exacto todavía continua en debate, en este estudio mostramos una importante asociación en las muestras analizadas, sin embargo, los niveles de calcio pudieron estar afectados indirectamente por la ingesta, el suministro médico y el método de detección.

Existe consenso en relaciona que más estudios son necesarios para explorar los cambios en las concentraciones de calcio durante las infecciones por dengue, las líneas de estudio están dirigidas a comprender: la homeostasis del calcio en la modulación de la disfunción cardíaca, la inmunopatogénesis y las anomalías plaquetarias relacionadas con el dengue.

Un hallazgo relevante del presente estudio es que los sutiles niveles alterados de calcio durante la fase aguda se normalizan durante la fase de recuperación, lo que se correlaciona con la mejora del paciente y recuperación de la enfermedad, no obstante, los estudios que evalúan el uso terapéutico del calcio en el dengue no han tenido suficiente poder estadístico y están mal diseñados para hacer recomendaciones firmes, indicado en la revisión de la literatura de Shivanthan, Mitrakrishnan C; Rajapakse, Senaka y señalando que más estudios son necesarios.(85)

En nuestro estudio el 72% (n=31) de los pacientes tenían hipocalcemia en la fase febril según el calcio ionizado, este porcentaje bajó a 47% (n=20) en la fase de recuperación. Godwin R Constantine y colaboradores (2014), encontraron que los niveles calcio sérico se correlacionaron significativamente con la gravedad del dengue en Sri Lanka; además, los niveles de calcio séricos fueron significativamente más bajos y la hipocalcemia fue más prevalente en pacientes con dengue hemorrágico que en pacientes con dengue.

Una limitación del presente estudio es la cantidad de sujetos evaluados, clasificando clínicamente a 2 sujetos con dengue con signos de alarma. Gulshan Kumar, observaron una correlación negativa significativa entre el nivel de calcio sérico y la gravedad de la infección por dengue, probablemente la cantidad de sujetos analizados al igual que este estudio es limitada, la probabilidad de tener datos más concretos el número de sujetos con una clasificación de dengue con signos de alarma o grave debe incrementarse.

La determinación de calcio sérico es una buena aproximación al estudio de su rol durante las infecciones por dengue, sin embargo, la determinación de calcio iónico se acepta con mayor validez, el calcio ionizado es una forma activa de calcio que se encuentra en la sangre y es más útil para indicar el calcio total y proporciona una mejor indicación del estado del calcio. En este estudio se determinó por métodos estandarizados del laboratorio las concentraciones de calcio sérico y se estimaron por fórmulas matemáticas el calcio iónico, por tanto, se maximiza los resultados y se muestra una alternativa de diagnóstico, sin embargo, los datos deben ser interpretados con precaución.

## 10. Conclusiones

Se estudiaron un total de 43 pacientes diagnosticados y confirmado por métodos moleculares para dengue 4 (DENV-4). El promedio de la edad de la población fue de 15 años (rango de 9-63años). Predomino el sexo masculino 67% y el 56% tenían educación secundaria (completa o no).

Las características clínicas más relevantes durante la fase aguda fueron: el 100% era febril, presentaron dolor de cabeza el 91%, escalofrío el 86% y dolor articular el 67%. En la fase convaleciente todos esos síntomas disminuyeron entre el 2%-9%. El 5% del total de los pacientes se clasificaron como dengue con signos de alarma.

Las concentraciones del calcio total (sérico) e ionizado, fueron más bajos durante la fase febril en comparación a la fase de convalecencia ( $p < 0.05$ ). La mayoría de los pacientes febriles tenían concentraciones de calcio ionizado que podían clasificarse como hipocalcemia.

Los niveles de calcio total y el ionizados se asociaron con la clínica, escalofríos, dolores de cabeza, dolor articular y muscular. Al relacionar el calcio total y el ionizado con los pacientes con dengue con signos de alarma, no se encontró ninguna correlación significativa.

## **11. Recomendaciones**

1. El número de sujetos evaluado podría establecer un nivel de asociación inconcluso.
2. Se observó tendencias en las determinaciones (cálculos matemáticos) de concentración de calcio iónico con las variables clínicas, la utilización de pruebas de laboratorio que detecten directamente el calcio iónico pueden mejorar significativamente los resultados.
3. Los niveles de calcio pueden estar alterados por la ingesta de suplementos vitamínicos, administración o el método de detección utilizado, sugerimos controlar estos y otros posibles variables confusoras.

## 12. Referencias bibliográficas

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. World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control : new edition. 2009 [cited 2023 Sep 20];(WHO/HTM/NTD/DEN/2009.1). Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/44188>
6. Organization WH. Dengue haemorrhagic fever : diagnosis, treatment, prevention and control [Internet]. World Health Organization; 1997 [cited 2023 Sep 20]. Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/41988>
7. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev.* 1998 Jul;11(3):480–96.
8. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Dec;8(12 0):S7-16.
9. 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.
10. Roy SK, Bhattacharjee S. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology. *Can J Microbiol.* 2021 Oct;67(10):687–702.
11. 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>
12. Rothman AL, Ennis FA. Immunopathogenesis of Dengue hemorrhagic fever. *Virology.* 1999 Apr 25;257(1):1–6.
13. Iqbal N, Islam M. Machine learning for dengue outbreak prediction: An outlook. *Int J Adv Res Comput Sci.* 2017 Feb 20;8:93–102.

14. 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.
15. Shivanthan M, Rajapakse S. Dengue and Calcium. *Int J Crit Illn Inj Sci*. 2014;4(4):314.
16. Uddin K, Musa A, Haque M, Sarker RSC. A Follow Up on Biochemical Parameters in Dengue Patients Attending BIRDEM Hospital. *Ibrahim Med Coll J*. 2009 Jul 27;2.
17. Sheshan VS, Shenoy GC, Kavya ST. Analysis of Hypocalcemia in Dengue and Correlation of Serum Calcium Levels with Severity of Dengue Disease. 2021;4(1).
18. Hoffmann HH, Schneider WM, Blumen VA, Scull MA, Hovnanian A, Brummelkamp TR, et al. Diverse Viruses Require the Calcium Transporter SPCA1 for Maturation and Spread. *Cell Host Microbe*. 2017 Oct;22(4):460-470.e5.
19. Bunnag T, Kalayanaroj 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.
20. Kapoor S, Singh A. Hypocalcemic Tetany: An Infrequently Recognized Association with Acute Dengue Infection. *Indian J Pediatr*. 2012 Dec 1;79(12):1673–1673.
21. Constantine GR, Rajapakse S, Ranasinghe P, Parththipan B, Wijewickrama A, Jayawardana P. Hypocalcemia is associated with disease severity in patients with dengue. *J Infect Dev Ctries*. 2014 Sep 12;8(9):1205–9.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Li Y, Wu S. Dengue: what it is and why there is more. *Sci Bull*. 2015 Apr;60(7):661–4.
26. 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.
27. 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>
28. 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>

29. Amarasinghe A, Kuritsk JN, Letson GW, Margolis HS. Dengue virus infection in Africa. *Emerg Infect Dis*. 2011 Aug;17(8):1349–54.
30. 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>
31. 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.
32. 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>
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. 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.

41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. Perera R, Kuhn RJ. Structural proteomics of dengue virus. *Curr Opin Microbiol*. 2008 Aug;11(4):369–77.
46. 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.
47. 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.
48. St John AL, Rathore APS. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. *Nat Rev Immunol*. 2019 Apr;19(4):218–30.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. Tian Y, Grifoni A, Sette A, Weiskopf D. Human T Cell Response to Dengue Virus Infection. *Front Immunol*. 2019;10:2125.

53. 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.
54. Guzman MG, Vazquez S. The complexity of antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. *Viruses*. 2010 Dec;2(12):2649–62.
55. 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.
56. Narayan R, Tripathi S. Intrinsic ADE: The Dark Side of Antibody Dependent Enhancement During Dengue Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:580096.
57. 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.
58. Izquierdo JH, Bonilla-Abadía F, Cañas CA, Tobón GJ. Calcio, canales, señalización intracelular y autoinmunidad. *Reumatol Clínica*. 2014 Jan;10(1):43–7.
59. Berna-Erro A, Woodard GE, Rosado JA. Orais and STIMs: physiological mechanisms and disease. *J Cell Mol Med*. 2012;16(3):407–24.
60. Luik RM, Wu MM, Buchanan J, Lewis RS. The elementary unit of store-operated Ca<sup>2+</sup> entry: local activation of CRAC channels by STIM1 at ER–plasma membrane junctions. *J Cell Biol*. 2006 Sep 11;174(6):815–25.
61. Schulze-Luehrmann J, Ghosh S. Antigen-Receptor Signaling to Nuclear Factor  $\kappa$ B. *Immunity*. 2006 Nov 1;25(5):701–15.
62. Macian F. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol*. 2005 Jun;5(6):472–84.
63. Cullen PJ, Lockyer PJ. Integration of calcium and RAS signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002 May;3(5):339–48.
64. 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.
65. 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.
66. 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.

67. Dhawan R, Chaturvedi UC, Khanna M, Mathur A, Tekwani BL, Pandey VC, et al. Obligatory role of Ca<sup>2+</sup> in the cytotoxic activity of dengue virus-induced cytotoxin. *Int J Exp Pathol*. 1991 Feb;72(1):31–9.
68. Khanna M, Chaturvedi UC, Dhawan R, Tekwani BL, Pandey VC. Presence of Ca<sup>2+</sup> is obligatory for the cytotoxic activity of dengue virus-induced cytotoxic factor. *Immunology*. 1991 Jan;72(1):73–8.
69. 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.
70. 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.
71. Authi KS. TRP channels in platelet function. *Handb Exp Pharmacol*. 2007;(179):425–43.
72. Colomer J, Means AR. Physiological roles of the Ca<sup>2+</sup>/CaM-dependent protein kinase cascade in health and disease. *Subcell Biochem*. 2007;45:169–214.
73. 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.
74. 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.
75. Dengue - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. [cited 2023 Sep 21]. Available from: <https://www.paho.org/es/temas/dengue>
76. 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](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2016000401003&lng=pt&tlng=pt)
77. 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>
78. 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.
79. 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

80. 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.
81. Kumar, G., Saini, R. P., & Rani, A. (2022). Study of Correlation of Serum Calcium Level with Disease Severity in Dengue Patients. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 70(4), 11-12.
82. Luengas, L. L., Tiga, D. C., Herrera, V. M., & Villar-Centeno, L. Á. (2016). Caracterización del estado de salud de las personas en su periodo de convalecencia de un episodio de dengue. *Biomédica*, 36, 89-97.
83. DURÁN, D. C. Q., & FUNES, D. U. L. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, UNAN-MANAGUA POSTGRADO EN MEDICINA INTERNA.
84. Domingo, K. M. G., Nazareth-Duque, C. L., & Blanco, M. C. C. (2021). Significance of hypocalcemia in predicting dengue severity in the pediatric population: A systematic review and meta-analysis. *Health Sciences Journal*, 10, 55-62.
85. Shivanthan, M. C., & Rajapakse, S. (2014). Dengue and calcium. *International Journal of Critical Illness and Injury Science*, 4(4), 314.

### 13. Apéndices

#### 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						
Espujo 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		

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						
<b>Tórax</b>						
Crepitantes						
Roncus						
Sibilancia						
Recesiones						
Gruñir						
Aleteo nasal						
Bilateral						
Unilateral						
<b>Abdomen</b>						
Hígado agrandado						
Hígado doloroso						
Bazo agrandado						
Bazo doloroso						
Dolor abdominal difuso						
<b>Sistema Nervioso</b>						
Rigidez de nuca						
Fotofobia						

Datos por sistema	Fase febril			Fase de recuperación		
	Si	No	N/E	Si	No	N/E
Alerta						
Confundido						
Somnolencia						
Coma						
<b>Piel y articulaciones</b>						
Rash						
Rash difuso						
Rash macular						
Rash papular						
Rash petequial						
Rash otro						
Ictericia						
Pústula/abceso						
Equimosis						
Inflamación articular						
Escara						
Fragilidad capilar						

N/E: No examinado

## 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		
Potasio		

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](mailto:fbucardo@cm.unanleon.edu.ni) o [armando.matute@cm.unanleon.edu.ni](mailto:armando.matute@cm.unanleon.edu.ni)

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

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

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

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

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

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

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

Por favor, llame al responsable de la investigación y principal investigador, Dr. Filemón Bucardo (89040938) y/o Dr. Armando Matute (88501291) o escríbale al correo electrónico [fbucardo@cm.unanleon.edu.ni](mailto:fbucardo@cm.unanleon.edu.ni) o [armando.matute@cm.unanleon.edu.ni](mailto:armando.matute@cm.unanleon.edu.ni) Si no puede

contactarle o desea contactar a alguien más, llame al Presidente del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAN-León (2311-4675).

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

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

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

- Algunas de sus muestras clínicas serán examinadas localmente en laboratorios de Nicaragua y estas pruebas estarán disponibles para el análisis por parte de su médico. El resto de sus muestras clínicas serán enviadas a laboratorios en los Estados Unidos para realizar pruebas que no se realizan en Nicaragua.
- Estos resultados no estarán disponibles para su atención médica ya que toma tiempo procesarlos y en la actualidad no se conocen plenamente. Los resultados estarán disponibles para los investigadores de la UNAN-León, UNC – Chapel Hill y Duke University para ayudar a comprender mejor las causas de enfermedades asociadas con fiebre en su comunidad. No obstante, UNC – Chapel Hill y Duke University no manejarán ninguna información que revele su identidad. Estas muestras clínicas se retendrán por parte del actual equipo investigador hasta que los exámenes del presente estudio estén completos o hasta que las muestras sean utilizadas completamente ya que las mismas pueden ayudarnos a desarrollar y evaluar los mejores exámenes para un diagnóstico rápido de patógenos (organismos) que causan fiebre en Nicaragua.
- Su muestra clínicas serán identificada por un número codificado de manera que su identidad permanezca anónima; toda la información de las muestras de sangre que pueda identificarle será eliminada. La única persona que tendrá acceso a la identificación del número codificado será el Dr. Filemón Bucardo, quien mantendrá la información codificada que vincula el código con su nombre y el número del hospital, en archivos confidenciales en la Facultad de Medicina de la UNAN-León.

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

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

### **Declaración de consentimiento**

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

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

Su firma en este formulario implica que:

- Usted entiende el propósito de este estudio, los procedimientos a seguir, y los riesgos y beneficios le han sido explicados.
- Se le ha permitido hacer preguntas libremente y se le han respondido todas sus interrogantes
- Usted sabe a quién contactar si tiene preguntas adicionales.
- Usted está de acuerdo en participar en el estudio y queda claro que puede retirarse en el momento que así lo desee.
- Se le ha informado que se le dará una copia firmada de este formulario de consentimiento, si lo solicita.

Futuros contacto:

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

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

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

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

---

---

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

Fecha:

---

---

Firma de la persona que obtiene el consentimiento

Fecha:

---

---

Nombre del menor de 1-17 años participante del estudio

Fecha:

---

---

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

Fecha:

---

---

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

Firma de testigo del procedimiento de consentimiento Fecha

---

Firma de la persona que obtiene el consentimiento Fecha:



---

**MARIA GABRIELA ZELAYA**

has completed the e-learning course  
**ESSENTIAL ELEMENTS OF**

**100%**

on

**13/07/2021**

This e-learning course has been formally recognised for its quality and content by the following organisations and institutions



---

Global Health Training Centre  
[globalhealthtrainingcentre.org/elearning](http://globalhealthtrainingcentre.org/elearning)

Certificate Number 5a4da297-72ee-49eb-8782-e89617771b63 Version number 0



---

Hereby Certifies that

**ITZELL CELESTE ZAPATA**

has completed the e-learning course

**ESSENTIAL ELEMENTS OF ETHICS**

with a score of

**100%**

on

**16/04/2022**

This e-learning course has been formally recognised for its quality and content by the following organisations and institutions



---

Global Health Training Centre  
[globalhealthtrainingcentre.org/elearning](http://globalhealthtrainingcentre.org/elearning)  
Certificate Number 0f325656-985b-4ea4-9b97-ca7b94ce4ee0 Version number 0