

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

TÍTULO:

COMPLICACIONES ASOCIADAS A TROMBOCITOPENIA EN PACIENTES CON
DIAGNÓSTICO DE DENGUE CLÁSICO QUE SE PRESENTARON AL SERVICIO DE
EMERGENCIAS DEL HOSPITAL SAN VICENTE DE PAUL DE HEREDIA ENTRE EL 1 DE
ENERO DEL 2010 Y EL 31 DE DICIEMBRE DEL 2014.

Trabajo final de investigación aplicada sometido a la consideración de la Comisión del
Programa de Estudios de Posgrado en Medicina de Emergencias para optar por el grado
académico de Médico Especialista en Medicina de Emergencias.

SUSTENTANTE:

DR. MAX ALONSO MORALES MORA

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2015

DEDICATORIA.

A mi esposa Marcelita... por su paciencia incondicional.

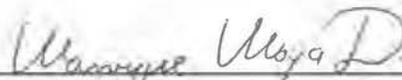
AGRADECIMIENTOS.

A la coordinación del Servicio de Emergencias del Hospital San Vicente de Paul, así como también a los Asistentes Especialistas del mismo servicio, por la ayuda brindada para la finalización de este proyecto.

“Este trabajo final de investigación aplicada fue aceptado por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Medicina de Emergencias de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado académico de Médico Especialista en Medicina de Emergencias.”

[Grado académico y nombre completo]

Decana o Representante de la Decana Sistema de Estudios de Posgrado



Dr. Manrique Moya Durán M.D.

Profesor Guía



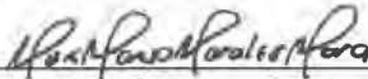
Dra. Adriana Yock Corrales M.D., MSc

Lector o Lectora



Dr. Manrique Umara Mc Dermott M.D.

Director o Coordinador/Representante Programa de Posgrado en Medicina de Emergencias



Dr. Max Alonso Morales Mora

Sustentante

TABLA DE CONTENIDOS

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE GRÁFICOS.....	vi
CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO	
1.1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.4. MARCO TEÓRICO.....	4
1.4.1. EPIDEMIOLOGÍA.....	4
A. EPIDEMIOLOGÍA.....	4
B. PANORAMA EN AMÉRICA.....	5
C. REALIDAD EN CENTROAMÉRICA Y EL CARIBE HASTA EL 2013.....	5
D. SITUACIÓN EN COSTA RICA.....	6
E. FACTORES ASOCIADOS CON LA INCIDENCIA DE DENGUE EN COSTA RICA.....	7
1.4.2. PRESENTACIÓN CLÍNICA.....	8
1.4.3. COMPLICACIONES ASOCIADAS.....	11
A. SÍNDROME DE CHOQUE POR DENGUE.....	11
B. ENCEFALOPATÍA POR DENGUE.....	12
C. MIOCARDIOPATÍA POR DENGUE.....	13
D. COAGULOPATÍA POR DENGUE.....	14
1.4.4. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS.....	14
A. AISLAMIENTO DEL VIRUS.....	14
B. DETECCIÓN DE ARN VIRAL.....	15
C. DETECCIÓN DE ANTÍGENOS.....	15
D. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS (IgM – IgG).....	16
E. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES.....	16
F. DETECCIÓN DE COMPLEJOS ANTÍGENO-ANTICUERPO.....	17
1.4.5. BIOMARCADORES ACTUALES DE SEVERIDAD POR DENGUE.....	17
A. PROTEÍNA SOLUBLE NO ESTRUCTURAL (NS1).....	17
B. MARCADORES DE DAÑO ENDOTELIAL Y DE ALTERACIONES MICROVASCULARES.....	19
1.4.6. PREVENCIÓN.....	20
A. CONTROL DE VECTORES.....	20
B. MÉTODO DE CONTROL DE VECTORES.....	21
C. CONTROL QUÍMICO: LARVICIDAS.....	22
D. CONTROL QUÍMICO: ADULTICIDAS.....	22
E. PROTECCIÓN INDIVIDUAL Y DE LAS VIVIENDAS.....	23
F. CONTROL BIOLÓGICO.....	24
G. NUEVOS HORIZONTES EN EL CONTROL DE VECTORES.....	25
1.4.7. MANEJO TERAPÉUTICO.....	25
A. NUEVAS TERAPIAS.....	25
B. VACUNAS CONTRA DENGUE.....	27
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS DEL ESTUDIO	
2.1. TIPO DE ESTUDIO.....	28
2.2. ÁREA DE ESTUDIO.....	28
2.3. MUESTRA.....	28
2.3.1. TAMAÑO DE MUESTRA.....	28
2.4. DEFINICIONES OPERACIONALES.....	29
2.4.1. VARIABLES.....	29
2.4.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	30
2.4.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	30
2.5. METODOLOGÍA EN LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	30
2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	31
2.6.1. MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	31
2.6.2. MEDICIONES Y ESTIMACIONES.....	31
2.6.3. PODER ESTADÍSTICO.....	31
CAPÍTULO 3: RESULTADOS DEL ESTUDIO	32

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
CAPÍTULO 5: CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO	38
5.1. LIMITACIONES.....	38
5.2. RECOMENDACIONES.....	38
5.3. CONCLUSIONES.....	38
REFERENCIAS	40

LISTA DE FIGURAS.

FIG. 1. Distribución geográfica del dengue.

FIG. 2. Casos de Dengue y muertes en Costa Rica del 2003-2013.

FIG. 3. Mapa Incidencia dengue/dengue hemorrágico en Costa Rica

FIG. 4. Clasificación de Severidad del Dengue.

FIG. 5. El Glicocálix de la Capa Endotelial.

FIG. 6. Agentes biológicos para el control de vectores

FIG. 7. Cálculo de tamaño muestral para Nivel de Confianza del 95%.

FIG. 8. Cálculo de tamaño muestral para Nivel de Confianza del 90%.

LISTA DE TABLAS.

TABLA 1. Número de casos reportados de dengue en los quince cantones de Costa Rica con mayor incidencia

TABLA 2. Parámetros Inmunológicos que podrían ser utilizados como posibles biomarcadores.

TABLAS DE RESULTADOS

TABLA 1. Complicaciones Presentadas en Pacientes con Diagnóstico de Dengue.

TABLA 2. Porcentaje de Estancia Hospitalaria en pacientes ingresados con dengue al Hospital de Heredia.

TABLA 3. Promedio y Desviación Estándar de Estancia Hospitalaria (días) en pacientes ingresados con dengue al Hospital de Heredia distribuidos según cantidad de plaquetas.

LISTA DE GRÁFICOS.

GRÁFICO 1. Factores de Riesgo Asociados a Desarrollar Complicaciones en Dengue.

GRÁFICO 2. Incidencia de Complicaciones Presentadas en Pacientes con Diagnóstico de Dengue.

|
|
|
|
|
|

CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO.

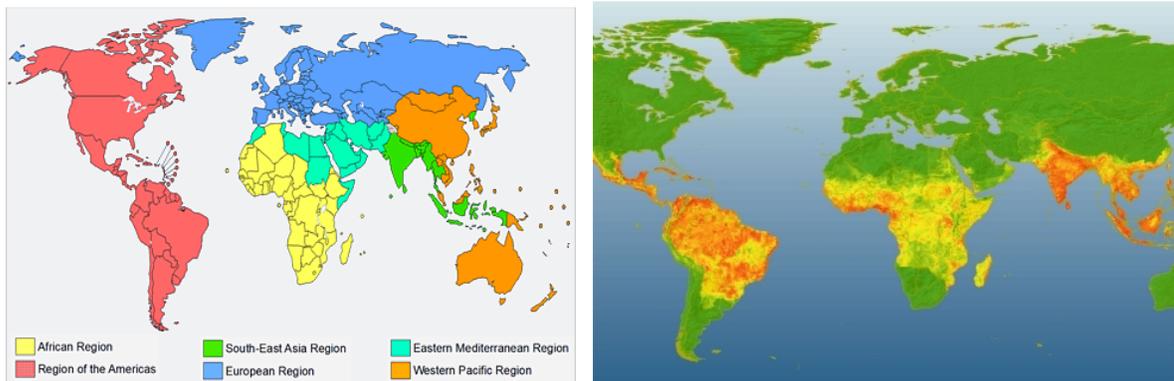
1.1. INTRODUCCIÓN.

Durante el siglo XIX, el dengue se consideró una enfermedad esporádica, causando epidemias en intervalos largos de tiempo.¹

Sin embargo, en la actualidad, se han presentado cambios drásticos en ese patrón, ahora el dengue se ubica como la enfermedad viral transmitida por mosquitos más importante en el mundo.¹

En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con brotes significativos que ocurren en cinco de seis regiones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). En la actualidad, el dengue es endémico en 112 países en el mundo¹ (**Figura 1**).

Figura 1.
Distribución geográfica del dengue.



Izquierda: regiones de OMS. Derecha: Zonas con mayor incidencia de Dengue.

Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2013.

Cada año millones de personas a nivel mundial se infectan por las enfermedades producidas por mosquitos, principalmente en zonas tropicales, en donde nuestro país no es la excepción.

En los últimos años se han presentado ciertos factores que han favorecido la re-emergencia de esta enfermedad, como lo son el urbanismo descontrolado y no planificado, el crecimiento poblacional desmedido, el aumento en los viajes entre países por el desarrollo de la aeronáutica, los fenómenos migratorios y la deficiente acción en planes preventivos de salud².

Esta incidencia tan alta es lo que ha llegado a convertir esta entidad no solo en un problema de salud pública sino que ha evolucionado a ser un problema social y económico, ya que la mayoría de las áreas de brotes endémicos de dengue se dan en países en vías de desarrollo, en donde una enfermedad que se comporte como epidemia puede llegar a ser el detonador del colapso de los sistemas de salud.

Afortunadamente la presentación clínica la mayoría de veces de esta enfermedad se caracteriza por un cuadro febril auto limitado, sin embargo hay un porcentaje de pacientes que pueden desarrollar

la forma grave de la enfermedad, caracterizada por un estado de hipovolemia y coagulopatía conocida como estado de choque asociado a dengue.¹

Históricamente se ha asociado la presencia de trombocitopenia como un marcador diagnóstico y como un signo de alarma en relación al desarrollo de complicaciones asociadas a dengue.¹

A raíz de lo anterior y en vista de que se sigue utilizando el parámetro de plaquetopenia, para la toma de decisiones en cuanto al manejo de la enfermedad, surge la necesidad de investigar si en nuestro propio registro de pacientes con diagnóstico de dengue hubo algún evento adverso o complicación asociada, con el fin de conocer nuestra casuística local así como también los factores que puedan estar asociados al desarrollo de las complicaciones de esta condición en nuestro medio.

1.2. JUSTIFICACIÓN.

El dengue es la enfermedad producida por un Arbovirus que más incidencia mundial tiene; África, el Sudeste Asiático, América Central y Sur se han convertido en zonas endémicas, se estima que entre 50 y 100 millones de infecciones ocurren anualmente y nuestro país no es la excepción, desde su re emergencia en 1993 al 2010 se contabilizan cerca de 226 mil casos diagnosticados-confirmados, lo que ha significado repercusiones no solo en la salud, sino también en lo económico y social.⁸

La mayoría de las afecciones relacionadas a dengue se caracterizan por ser un cuadro febril auto limitado sin complicaciones asociadas, sin embargo un pequeño porcentaje puede evolucionar hacia un cuadro caracterizado por hemorragias espontáneas, extravasación vascular y trombocitopenia, las cuales en conjunto pueden evolucionar a un estado de choque asociado a dengue.¹⁴

La intensidad de la trombocitopenia ha sido un parámetro usado para clasificar la severidad de la enfermedad y se ha utilizado como un parámetro diagnóstico de dengue hemorrágico, cuando se tienen recuentos menores a los 100 mil¹, sin embargo actualmente no hay suficiente evidencia que respalde la asociación entre la trombocitopenia y las complicaciones de esta enfermedad.³

A pesar de los esfuerzos que se han hecho por entender en dengue la relación entre la presentación clínica y la progresión grave de la enfermedad no ha sido posible encontrar dicha asociación, la cual de ser posible podría traer consigo importantes consecuencias positivas en el diagnóstico y manejo de esta enfermedad.³

Los estudios hechos en laboratorio sugieren que podría existir dicha relación entre la activación de la coagulación y la fibrinólisis, pero no hay estudios clínicos concluyentes que sugieran su relación con la progresión de la enfermedad.⁴

Fisiopatológicamente en el estado de choque asociado a dengue hay tres eventos que lo caracterizan como lo son la afección de la permeabilidad vascular junto con la disfunción endotelial y la importante fuga de plasma al espacio extravascular y clínicamente podría presentarse como serositis, hemoconcentración e hipoproteinemia.⁴

La razón de ser de este estudio es conocer a nivel local, las eventuales complicaciones asociadas

a trombocitopenia (100 mil plaquetas) en pacientes que ingresaron con el diagnóstico de dengue al Servicio de Emergencias del Hospital de Heredia y así poder analizar si existe relación entre la intensidad de la trombocitopenia y el desarrollo de complicaciones asociadas al Dengue.

Esta consideración ha llegado a sobre poblar los Servicios de Emergencias y hospitalización de nuestros hospitales públicos, con pacientes cuyo recuento de plaquetas no representa un peligro potencialmente fatal y más bien generan un elevado consumo de insumos tanto materiales como humanos lo que lleva a encarecer de recursos económicos a las instituciones del sistema de salud.

Por lo que la presente investigación puede ser un instrumento para orientar y reorganizar nuevas políticas de manejo del dengue en nuestra institución, así como también servir de punta de lanza para otros trabajos relacionados a esta enfermedad.

1.3. OBJETIVOS.

1.3.1. OBJETIVO GENERAL.

Analizar si hay relación entre el nivel de trombocitopenia y el desarrollo de complicaciones en pacientes con diagnóstico de dengue que se presentaron en el Servicio de Emergencias del Hospital de Heredia entre el 1 de enero del 2010 al 31 de diciembre 2014.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

-Comparar la prevalencia de complicaciones en pacientes con niveles altos y bajos de trombocitopenia con el diagnóstico de dengue en el Servicio de Emergencias del Hospital de Heredia en el periodo descrito.

-Describir el tipo de complicaciones presentadas en pacientes con niveles altos y bajos de trombocitopenia(mas de 50 mil y menos de 50 mil) con diagnóstico de dengue en el Servicio de Emergencias del Hospital de Heredia, en el periodo mencionado.

-Identificar factores de riesgo asociados a la presencia de complicaciones presentadas por los pacientes con dengue de acuerdo a los diferentes valores de plaquetas.

1.4. MARCO TEÓRICO.

1.4.1. EPIDEMIOLOGÍA.

A. Epidemiología.

Es el dengue la arbovirosis con mayor morbi-mortalidad a nivel mundial; se estima que cada año se infectan alrededor de 50 millones de personas alrededor del mundo de los cuales 500 mil desarrollaran la forma severa de la enfermedad y 20 mil morirán por dengue.¹ Se estima que la mortalidad ronda del 0,5 a 3,5%.²

La infección por dengue surgió como un problema de salud pública en 1954, cuando la primera epidemia ocurrió en Manila y se fue extendiendo gradualmente a otros países de la región.

Las principales epidemias se produjeron en otras regiones del mundo en los años 1980 y 1990 y fueron causadas por cuatro serotipos del virus de dengue. Mientras que el serotipo predominante en la década de 1980 y principios de 1990 fue DEN-2, en los últimos años se ha cambiado a la DEN serotipo 3.²

En 1998, una pandemia de infecciones virales de dengue ocurrió, donde se registraron 1,2 millones de casos de dengue y dengue hemorrágico en 56 países en todo el mundo. La población mundial se ha expuesto a un nuevo subtipo del virus DEN-3 (subtipo III), que se originó en el subcontinente indio y más tarde se propago a otros continentes. La exposición de una población no inmune a este nuevo subtipo de DEN-3 puede haber sido la causa de esta pandemia. Una situación de magnitud comparable también fue visto en 2001-02.²

Las manifestaciones de la enfermedad varían de una enfermedad similar a la gripe tipo influenza conocida como fiebre del dengue (FD) a una enfermedad grave, a veces mortal que se caracteriza por hemorragia y choque, conocida como dengue hemorrágico y síndrome de choque por dengue (DH / SCD).¹

La fiebre del dengue, dengue hemorrágico y el síndrome de choque asociado a dengue son causados por los cuatro serotipos virales transmitidos vectorialmente a los seres humanos susceptibles principalmente por la picadura de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* especies de mosquitos. La recuperación de la infección por un serotipo proporciona inmunidad vitalicia contra ese serotipo, pero sólo una protección parcial y transitoria contra la infección subsiguiente por los otros tres.¹

Los cambios en la distribución etaria, extensión rural y los determinantes sociales y biológicos de la raza tienen importantes implicaciones para los servicios de salud. Factores de riesgo asociados al comportamiento, los determinantes individuales de resultados y los principales indicadores de enfermedad grave, son poco conocidos, lo que compromete la eficacia de los programas de control.¹²

B. Panorama en América.

La interrupción de la transmisión del dengue en gran parte de la Región de las Américas de la OMS, fue el resultado de la campaña de erradicación del *Ae. aegypti* en dicha zona, principalmente durante la década de 1960 y principios de la década de 1970. Sin embargo, no se mantuvieron las medidas de vigilancia y control del vector, y hubo reinfecciones subsiguientes del mosquito, seguidas de brotes en el Caribe, en América Central y América del Sur. ⁴ Desde entonces, la fiebre del dengue se ha propagado con brotes cíclicos que ocurren cada 3 a 5 años. El mayor brote ocurrió en 2002 en el que se notificaron más de un millón de casos.

De 2001 a 2007, más de 30 países de las Américas notificaron un total de 4' 332.731 casos de dengue.⁵ El número de casos de fiebre hemorrágica por dengue (FHD) en el mismo período fue de 106.037. El número total de muertes por dengue de 2001 a 2007 fue de 1.299, con una tasa de letalidad por la forma hemorrágica de 1,2%. Los cuatro serotipos del virus del dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) circulan en la región. En Barbados, Colombia, República Dominicana, El Salvador, Guatemala, Guyana Francesa, México, Perú, Puerto Rico y Venezuela, se identificaron simultáneamente los cuatro serotipos en un año durante este período.⁶

C. Realidad en Centro América y el Caribe hasta el 2013.

Entre los años 2008 y 2012 se han notificado una media de 1.15 millones de casos de dengue, 32.301 casos de dengue grave y 726 muertes. Centro América, ha contribuido en los últimos 5 años con el 7.7% de los casos del continente con una media de 88,470 casos de dengue, 2,545 casos graves y 57 muertes. En dicho período se notificó la circulación de los 4 serotipos del dengue.⁸

El dengue en Centro América al igual que en República Dominicana, presenta una estacionalidad caracterizada por un incremento de casos que ocurre alrededor de la semana epidemiológica 25 y se prolonga hasta la semana epidemiológica (SE) 50; correspondiendo al período lluvioso.⁸

Entre los años 2008 y 2012 Honduras es el país con mayor número de casos de dengue notificados 124,797 (28.2%) y 131 (36.0%) muertes por dengue de la subregión; con una media anual de 24,959 casos y 22 muertes, seguido por El Salvador y en tercer lugar Costa Rica.⁶

Durante el 2013, hasta la semana epidemiológica 26, Centro América y República Dominicana han notificado 51.094 casos de dengue, correspondiendo a un incremento del 86.0% comparados con los 27,512 casos de dengue notificados al mismo período en el 2012. Siendo Costa Rica, con 13,474 casos, el país con mayor incidencia, con 13,474 casos, el país con mayor incidencia (295,3 por cien mil habitantes), seguido por Nicaragua (172,2 por cien mil hab), El Salvador (162,1 por cien mil hab.) y Honduras (109,2 por cien mil hab.).⁶

El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y República Dominicana han notificado brotes de

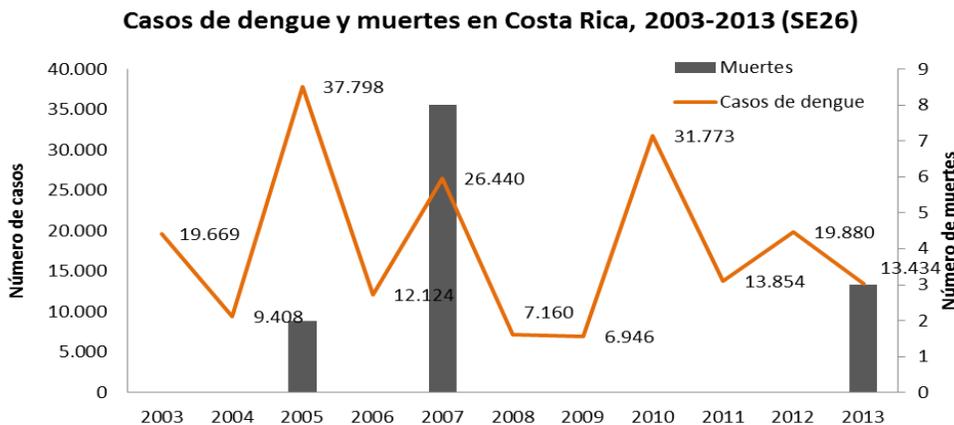
dengue desde comienzos del año. Notificándose 1.803 casos de dengue grave, 1,5 veces más comparado con los 719 casos de dengue grave al mismo período del 2012. Durante el 2013 se han notificado 52 muertes, de las cuales 34 (65,4%) se han producido en República Dominicana, 11 (21,2%) en Honduras y 3 (5,8%) en Costa Rica. Al comparar la letalidad (muertes por cien casos de dengue) estos tres países son los que han aumentado su letalidad comparado con el año anterior.⁶

En relación a la circulación viral, a excepción de República Dominicana que no ha notificado el virus circulante, los 4 serotipos circulan en Centro América.⁶

D. Situación en Costa Rica al 2013.

El dengue en Costa Rica se ha caracterizado por presentar picos epidémicos entre cada 2 a 3 años en los últimos 10 años. Siendo el año epidémico con mayor cantidad de casos el 2005 con 37.798 casos, los siguientes años epidémicos fueron 2007 y 2010. Por el comportamiento del año 2013, estamos en un año epidémico. En los diez años anteriores, se han notificado 185.052 casos de dengue (media anual de 18.505 casos); de los cuales 682 (media anual de 68 casos) que corresponden al 0,4% se clasificaron como dengue grave y en total 10 muertes se han producido, 2 durante el 2005 y 8 en el 2007, desde entonces no se producían muertes por dengue, pese a la epidemia del 2010. Hasta la SE 26 del 2013, se contabilizan 3 muertes.⁶

Figura 2.
Casos de Dengue y muertes en Costa Rica del 2003-2013.



Fuente: Programa Regional de Dengue. Situación de Dengue en Centro América y República Dominicana, PanAmerican Health Organization, 2013.

En el 2013, hasta la semana 28 se habían notificado 14,929 casos de dengue, afectando todas las provincias del país, sin embargo, el 70% de los casos se concentran en 15 cantones, los cuales forman parte de las áreas priorizadas en la alerta epidemiológica emitida por el Ministerio de Salud.⁸

Tabla 1
Número de casos reportados de dengue en los quince cantones de Costa Rica con mayor incidencia.

Fuente: Dirección Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud, República de Costa Rica, 2013

E. Factores Asociados con la Incidencia de Dengue en Costa Rica.

En Costa Rica la incidencia del dengue es relativamente reciente, pues el vector había sido erradicado en 1960 gracias al Programa de Control de Insectos del Ministerio de Salud. La reintroducción del mosquito se dio a principios de la década de 1990, pero los primeros casos de dengue se registraron en 1993 en las ciudades de Liberia y Puntarenas, extendiéndose posteriormente a otras zonas del país ⁷. Según datos del Ministerio de Salud, desde ese año se han notificado cerca de 226 000 casos de D/DH, que incluyen aproximadamente 120 000 casos acumulados entre 2005 y 2010⁸. Los 37 798 casos registrados solo en 2005 ubicaron a Costa Rica como el país de mayor incidencia en América Latina ⁵. En 2007 y 2008 ocupó el segundo lugar de Centroamérica, solamente superado por Honduras ⁶.

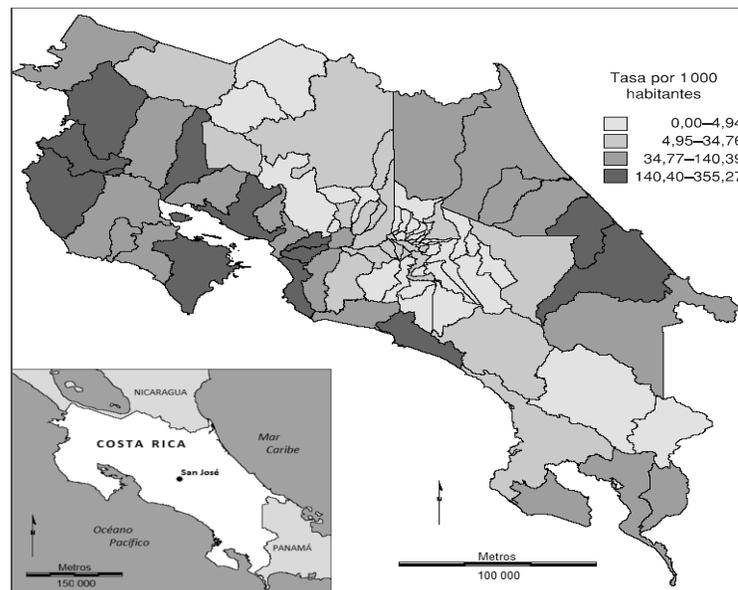
El incremento en los casos de D/DH en Costa Rica podría obedecer a una serie de factores entre los que se incluyen un aumento en la densidad poblacional, la globalización del transporte que permite la movilización de personas y mosquitos y una urbanización descontrolada ⁹. En relación con este último factor, su impacto podría deberse a deficiencias en el acabado de las viviendas y en las condiciones de vida que propician el hacinamiento, así como insuficiencia de servicios básicos como agua potable, salud y saneamiento, todos aspectos que modulan positivamente la ocurrencia de la enfermedad, ya que propician el contacto humano-vector ⁹.

En América Latina el principal vector de dengue es *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), cuyo comportamiento y biología condicionan una alta eficiencia en la transmisión del virus y una amplia distribución en zonas urbanas ⁵. Al no existir una vacuna disponible, la mejor alternativa para prevenir la enfermedad consiste precisamente en el control vectorial. Dado que en las últimas décadas las estrategias de control y prevención no han mostrado efectos satisfactorios o no se han

empleado de manera adecuada, es perentorio evaluarlas y rediseñarlas para reducir la epidemia y eventualmente eliminar esta preocupante enfermedad.

La incidencia de D/DH está regulada por interacciones entre el vector, el virus y el ser humano en el ecosistema ¹⁰, razón por la cual los diversos factores que afectan a estos tres elementos repercuten en la dinámica de transmisión. En Costa Rica la distribución de la incidencia de D/DH no ocurre al azar, sino que más bien se encuentra localizada principalmente en determinadas regiones geográficas ¹¹.

Figura 3
Mapa Incidencia dengue/dengue hemorrágico en Costa Rica.



Fuente: Mena et al. Factores asociados con la incidencia de dengue en Costa Rica. Rev Panam Salud Pública, 2011.

En un análisis realizado por Mena y colaboradores¹² los resultados permitieron relacionar una mayor incidencia de D/DH con cantones de menor altitud, mayor temperatura y un IPH elevado.

Esta información es relevante como un primer paso para estratificar prioridades y optimizar acciones de prevención y control de esta enfermedad.

1.4.2. PRESENTACIÓN CLÍNICA.

Al ser una enfermedad dinámica la presentación clínica puede variar, esto le confiere al dengue una característica particular y es el hecho que puede debutar como un cuadro indiferenciado de estado de choque o un simple cuadro febril. Esto ha llegado a cuestionar la clasificación planteada por OMS 2009, y que tiene sus raíces desde 1975, en la cual se divide el cuadro clínico en: Fiebre por dengue (FD), Fiebre hemorrágica por dengue(FHD) y choque asociado a dengue(SCD). Mas adelante

se le añadió cuatro subtipos a la clasificación de dengue hemorrágico.¹

Si bien es cierto esta clasificación tiene una base etiológica, que describe el patrón de la enfermedad, en los últimos años ha llegado a ser cuestionada por no apegarse a la fisiopatología de la enfermedad y que ha llevado a la mala interpretación de los contextos clínicos de la enfermedad, generando muchas veces el inadecuado abordaje de esta enfermedad así como también la mala utilización de recursos.

En la práctica, las clasificaciones de casos sirven para múltiples propósitos. Ellos pueden guiar a los médicos en el diagnóstico de una condición particular, de decidir el nivel de gravedad y la determinación del tratamiento.²³

También se necesitan clasificaciones de casos en vigilancia epidemiológica, para la recolección de datos de rutina, para investigaciones de brotes y al probar la eficacia de las vacunas o medicamentos para la medición de resultados. Se suponía y se ha citado con frecuencia en la literatura que FD representa la forma leve de dengue, dengue hemorrágico la forma grave, y SCD forma muy grave y potencialmente mortal. Sin embargo, los médicos y epidemiólogos notaron que DF podría ser una enfermedad mortal; FHD a menudo causa una enfermedad leve solamente y más a menudo, que cuando se utilizan los rígidos criterios de DH para algunos pacientes no fue posible clasificarlos en absoluto. A medida que la enfermedad se extendió a nivel mundial y se trasladó más allá de una enfermedad mayoritariamente pediátrica, estas limitaciones se hicieron más evidentes.²⁹

Se hizo una revisión de la literatura actual en donde se evidencio que no era posible completar los criterios de dengue hemorrágico (trombocitopenia, fuga capilar y prueba torniquete positiva), además se evidencio que la prueba del torniquete no era el marcador para definir fiebre hemorrágica por dengue, ya que no logra distinguir entre dengue hemorrágico y fiebre por dengue³⁰.

En los casos de FHD, la trombocitopenia se observó en una gama de 8,6 a 96%, la pérdida de plasma en 6-95%, y manifestaciones hemorrágicas en 22 a 93%. Se pensaba que la baja sensibilidad de los criterios de dengue hemorrágico puede ser debido a la falta de repetir las pruebas o exámenes médicos en el momento apropiado, la terapia temprana intravenosa de fluidos, y la falta de recursos adecuados en una situación de epidemia, y tal vez una considerable superposición de manifestaciones clínicas de las diferentes entidades del dengue. El estudio pone de manifiesto las deficiencias del modelo FD / FHD / SCD en la práctica clínica y en particular durante los brotes de dengue.²³

Los estudios epidemiológicos han logrado identificar factores de riesgo que podrían empeorar el curso del dengue, como los son: infecciones secundarias, extremos etarios, malnutrición, embarazo, comorbilidades como hipertensión arterial y diabetes²⁵⁻²⁶. Además se demostró que la incidencia fue mayor en hombres que en mujeres, sin embargo los casos mas severos representaron en mujeres.²⁸

Dentro del espectro de la presentación clínica, en la actualidad se ha demostrado que los pruebas hematológicas no son parámetros confiables para estratificar la severidad de la enfermedad, así como tampoco se ha podido validar la utilidad de ultrasonido para predecir el curso de la enfermedad, es por eso que adquiere mas importancia la utilidad de signos de alarma para esta

estratificación los cuales pueden ser aplicados en cualquier contexto socioeconómico.²⁸

La trombocitopenia ha sido el parámetro hematológico más comúnmente valorado como factor pronóstico, sin embargo en la actualidad no hay evidencia que sustente dicha asociación, dada la amplia gama de valores normales de plaquetas y el hecho de que el punto más bajo se produce relativamente tarde en el curso de la enfermedad, se han hecho esfuerzos para desarrollar algoritmos de pronóstico que combinan el recuento de plaquetas con otros índices hematológicos durante la fase febril.²⁹

La patogénesis de la trombocitopenia es debida en gran parte al aumento de la destrucción de las plaquetas como resultado de la activación del complemento, el secuestro periférico y disfunción medula ósea (Krishnamurti et al., 2001) y más recientemente, el estrés oxidativo (Soundravally et al., 2008). Las plaquetas también se muestran a adherirse preferentemente a las células endoteliales estimuladas con virus de dengue (Krishnamurti et al., 2002)⁴⁵

El método más común para valorar la permeabilidad vascular se basa en la identificación de hemoconcentración relativa, determinada mediante el aumento de más del 20% del valor inicial. Sin embargo, este método puede ser bastante insensible, particularmente si el paciente está recibiendo fluido parenterales, y también está limitada por el hecho de que el valor basal de un individuo rara vez se conoce. Por lo tanto, aunque la evaluación de hemoconcentración puede ser útil para el manejo de casos, a menudo sólo es posible apreciar la verdadera gravedad de hemoconcentración una vez que la enfermedad aguda se haya resuelto y el hematocrito ha vuelto a la normalidad para ese individuo.³⁰

En un estudio prospectivo de 700 niños vietnamitas se determinó que los síntomas gastrointestinales (principalmente dolor abdominal) así como hepatomegalia fueron los signos más comunes en pacientes con dengue hemorrágico, y la hemoconcentración mayor del 50% se asoció a síndrome de choque por dengue.³²

En el estudio Denco²⁴, que abarcó países de Latinoamérica y Asia, concluyó que del 18 a 40% de los casos no podían ser clasificados mediante la clasificación actual y más de 15% de casos con choque tampoco podían ser clasificados como casos graves de dengue, porque no cumplían con alguno de los criterios para ser considerado FHD/SCD. Los resultados del estudio confirmaron que, mediante el uso de un conjunto de datos clínicos, parámetros de laboratorio, o ambos, se puede observar una clara diferencia entre pacientes con dengue grave (DG) y dengue no grave y se demostró que solo un pequeño porcentaje de pacientes cumplían con los criterios de dengue hemorrágico a pesar de presentar síndrome de choque asociado a dengue. Este estudio permitió identificar algunos factores de riesgo asociado a desarrollar algún tipo de complicación, estos factores incluían, la evidencia de fuga capilar, hemorragia severa y afección orgánica.²⁴

Estas características fueron capaces de identificar los pacientes con dengue que requirieron grandes intervenciones clínicas; así dengue grave y (no grave) dengue podían distinguirse con una sensibilidad del 96% y el 100% de especificidad.²⁴.(Figura 4)

Este trabajo fue la pauta para clasificar clínicamente el dengue basado en la severidad en dengue con o sin signos de alerta y dengue grave.

Figura 4
Clasificación de Severidad del Dengue.

Dengue con o sin signo de alerta

Dengue Severo

Fuente: Adaptado de Dengue Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control, New edn. Geneva: WHO; 2009.

Estas señales de alarma se diseñaron con el fin de ayudar a los profesionales de la salud para decidir desde el triage quién necesita ingreso hospitalario y un seguimiento más intensivo durante las epidemias de dengue, sin necesidad de recurrir a extensas investigaciones de laboratorio.

1.4.3. COMPLICACIONES ASOCIADAS.

A. Síndrome de Choque por Dengue.

La complicación más importante que se presenta en pacientes con dengue es el desarrollo de del síndrome de choque por dengue, donde la característica primordial es el fenómeno de extravasación.

Aunque la vía específica no se ha identificado, la relación de eventos inmunopatogénicos conocidos, (con efectos definitivos sobre la permeabilidad microvascular) mecanismos termorreguladores, o ambos, han sugerido a través de datos preliminares que se produce una interrupción transitoria en la función de la capa endotelial glycocalyx.³³⁻³⁴. (Figura 5) Esta capa

estructural similar a un gel cargado negativamente en la superficie luminal de la microvasculatura, constituye la barrera de permeabilidad primaria, además funciona como un filtro, restringiendo selectivamente moléculas dentro de plasma de acuerdo a su tamaño, carga y forma.³⁶⁻³⁸

Figura 5
El Glicocálix de la Capa Endotelial.



Fuente: Dengue en The New England Journal of Medicine (N Engl J Med 2012;366:1423-32).

Las interacciones entre la proteína no estructural dengue 1 (NS1) y la capa glyocalyx pueden resultar en la liberación de sulfato de heparan en la circulación, sustancia que va alterando así las características de filtración de la capa y que resulta en la fuga de proteínas. La pérdida de proteínas esenciales de la coagulación probablemente juega un papel importante en el desarrollo de la coagulopatía típica, que generalmente se manifiesta como un aumento en el tiempo parcial de tromboplastina, acompañada por niveles bajos de fibrinógeno pero con poca evidencia de la activación procoagulante. El sulfato de heparan también puede funcionar como un anticoagulante y contribuir a la coagulopatía.³⁵

El factor activador de plaquetas (FAP) que es un mediador lipídico también se ha visto involucrado en la génesis de la fuga capilar; en el estudio del Dr Chandiga³⁷, se encontró que el FAP fue significativamente mayor en los pacientes con dengue hemorrágico y que los niveles de FAP se elevaron justo antes del inicio de la fase crítica de dengue, durante la cual se piensa se produce la fuga capilar. El uso previo de un bloqueador de FAP redujo significativamente estos efectos, lo que sugiere que el FAP juega un papel importante en la inducción de fuga vascular en la infección aguda por dengue.³⁷

El aumento de la permeabilidad vascular, va condicionar la formación de un tercer espacio, que ha su vez provoca hipovolemia intravascular, que va condicionar la precarga y por tanto el gasto cardiaco, lo que al perpetuarse en el tiempo profundiza el estado de choque.

B. Encefalopatía por dengue.

La Encefalopatía por dengue o fiebre hemorrágica del dengue (FHD) con afectación neurológica, fue considerada como una de las raras presentaciones de este agente infeccioso. En los últimos años, se han reportado muchos de estos casos clínicos, aunque todavía permanecen aislados. A pesar de ser considerado un virus no neurotrópico, se ha reportado manifestaciones neurológicas raras de la infección por dengue tales como mielitis transversa, síndrome de Guillain-Barré, encefalomielitis diseminada aguda, y miositis.³⁸.

La Encefalopatía por Dengue es ahora bien reconocida, aunque infrecuente, con una incidencia que va desde 0,5% a 6,2% ³⁹. Actualmente, no hay una explicación clara de la patogénesis de la encefalopatía por dengue, dentro de las explicaciones posibles para los síntomas neurológicos se incluyen insuficiencia hepática (encefalopatía hepática), hipo perfusión cerebral (trauma), edema cerebral (fuga vascular), trastornos electrolíticos y hemorragia intracraneal debido a trombocitopenia coagulopatía . En algunos casos, los síntomas neurológicos siguen sin una respuesta, en estos pacientes la infiltración neuronal directa por el virus puede ser la clave de la patogénesis.⁴⁰

En últimos años, se han reportado varios casos clínicos, sobre todo desde los trópicos . En el estudio descrito por Misra et al. ³⁹, de los once pacientes con infección por dengue confirmados, ocho tenían evidencia de pleocitosis del líquido cefalorraquídeo, pero el estudio viral del líquido cefalorraquídeo no estaba disponible. Solomon et al. ⁴¹ diagnosticaron encefalitis por dengue en nueve pacientes, pero demostraron virus o anticuerpos en el LCR en sólo dos casos.

C. Miocardiopatía por dengue.

Diversos factores como las citoquinas, factor de necrosis tumoral alfa y radicales libres de oxígeno se liberan durante las infecciones virales agudas, lo que puede jugar un papel importante en la patogénesis de la miocarditis viral.⁴²

Las citoquinas liberadas por las células inflamatorias del miocardio causan un microambiente muy rico en citoquinas lo que podría ser responsable de la mayor expresión de moléculas de adhesión y por lo tanto contribuyen al tráfico de mediadores inflamatorios de las células inmunes a las áreas inflamadas de miocardio.⁴³

El virus del dengue podría implicar el corazón y causar disfunción cardíaca en pacientes con dengue hemorrágico / síndrome de choque del dengue. A pesar de la participación de varios órganos en el síndrome de choque del dengue o dengue hemorrágico, lesiones patológicas en el corazón no han sido bien documentadas, sin embargo, se ha informado de la hemorragia subendocárdica en forma de llama en el tabique ventricular izquierdo.⁴⁴

Ya que se está ampliamente de acuerdo en que el síndrome de choque por dengue es una enfermedad mediada inmunológicamente, un mecanismo similar a los implicados en la causa de la miocarditis viral, puede desempeñar un papel en el desarrollo de la miocarditis relacionada con el virus del dengue.⁴⁴

La disfunción miocárdica en conjunto con la hipovolemia podrían llegar a terminar con desenlaces fatales, llegando a perpetuar un estado de choque de etiología mixta.

D. Coagulopatía por dengue.

Fisiopatológicamente ocurre una disfunción plaquetaria ocasionada por la interacción del virus con las plaquetas. Las alteraciones de la coagulación y las complicaciones hemorrágicas están asociadas a la disfunción de las proteínas S y C y la trombomodulina, las cuales se encuentran notablemente disminuidas así como también lo son los incrementos en el Inhibidor del activador del plasminogeno 1 (PAI-1 *siglas del ingles*), datos observados en pacientes que desarrollaron síndrome de choque por dengue.⁴⁵

Reducciones variables en las actividades de los factores de coagulación , incluidos los factores II, V, VII, VIII, IX, X, antitrombina y alfa-2-antiplasmina, se han demostrado durante la fase aguda de dengue hemorrágico en un pequeño número de pacientes.⁴⁵

Además se ha comprobado in vitro la activación del plasminógeno por el virus del dengue, por lo tanto la plasmina generada tiene actividad de degradar tanto la fibrina como el fibrinógeno, esto ha llegado a correlacionarse con la presencia de hemorragia pero no con el desarrollo de choque por dengue, que a la postre es la principal causa de mortalidad por dengue.⁴⁵

1.4.4. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS.

El diagnóstico de la enfermedad más común a nivel mundial causado por mosquitos sigue siendo un reto. Inicialmente se presenta como un cuadro febril indiferenciado, cuyas manifestaciones mas patognomónicas se presentan en etapas tardías de la enfermedad. Como se menciona anteriormente hay un sin número de síntomas clínicos que pueden llevar a orientar el diagnóstico de dengue, los cuales cuando se presentan durante las epidemias en zonas endémicas se trataran como dengue, mientras se espera resultados de otras pruebas para confirmar el diagnóstico.⁴⁸

Se han tratado de realizar modelos de abordaje diagnóstico basado solo en las manifestaciones clínicas, sin embargo, no ha sido posible concretarlos; la limitación que se ha evidenciado es la falta de estandarización en cuanto al diseño del estudio, los criterios de diagnóstico y recopilación de datos.⁴⁹ Como el diagnóstico clínico carece de especificidad, el diagnóstico definitivo de la infección por dengue requiere confirmación de laboratorio. Hay diferentes métodos diagnósticos en la actualidad.

A. Aislamiento del virus.

La viremia del dengue puede ser detectada de 2 a 3 días antes de la aparición de fiebre hasta un máximo de 5,1 y 4,4 días después de la aparición de la enfermedad, durante la infección primaria y secundaria, respectivamente⁵⁰. Durante este período de viremia, sangre, suero o muestras de plasma se pueden utilizar para el aislamiento del virus.

El método mas sensible para aislar el virus del dengue, es la inoculación de mosquitos, se han

encontrado varias especies de mosquitos que ha sido útiles y sensibles en el aislamiento del dengue, incluyendo *A. aegypti*, *A. albopictus* y *Toxorhynchites splendens*, donde tanto los mosquitos machos y hembras son susceptibles.⁵¹

La tasa de aislamiento de los cuatro serotipos de DENV está en el intervalo de 71,5 a 84,2%.⁵¹

A través de inmunofluorescencia también se puede confirmar el diagnóstico de aislamiento viral, por medio de la detección de anticuerpos monoclonales.⁵²

La especificidad del aislamiento viral es alta, aunque tiene una limitante, que solo detecta un virus, la sensibilidad de este estudio ronda el 40%.⁵³

B. Detección del ARN viral.

La detección de ARN viral a través de la reacción en cadena de la polimerasa RCP transcriptasa (RT-PCR) de detección inversa a partir de sangre, suero o plasma proporciona un método rápido, sensible y específico para la confirmación de la infección por dengue.⁵⁴⁻⁵⁵

La sensibilidad de la RT-RCP convencional oscila desde 48,4 hasta 98,2% y tiene un límite de detección de 1-50 unidades formadoras por placa. La sensibilidad de la RT-RCP también es altamente dependiente del corto periodo de ventana que coincide con el período de viremia, que puede durar hasta 8 días a partir de inicio de la enfermedad, sin embargo es raro detectar resultados positivos después de 6 días.¹⁻⁵⁶

Además de muestras de sangre, RT-RCP también se puede utilizar para detectar ARN viral en los tejidos, incluyendo muestras fijadas con formalina, además de detectarse en saliva y orina.⁵⁶⁻⁵⁷

C. Detección de antígenos.

El antígeno detectado es el NS1 que es una glicoproteína esencial para la viabilidad del virus del dengue y se secreta a partir de células infectadas como un hexámero soluble.⁵⁸

Se ha encontrado que se correlaciona con el título de la viremia y la gravedad de la enfermedad, se puede detectar desde los 9 días del inicio de la enfermedad y podría persistir elevado inclusive por 18 días.⁵⁹

La detección de NS1 es menos sensible en la infección secundaria por dengue (67,1 a 77,3%) en comparación con los casos de infección primaria (94,7 a 98,3%), probablemente debido a la presencia de anticuerpos anti-NS1 de reacción cruzada que impide la detección de proteínas NS1 libres en el suero o plasma.⁶⁰

Los anticuerpos anti-NS1 también se pueden usar para detectar la infección en otras muestras, tales como tejidos, incluyendo el hígado, pulmón y riñón, a través de inmunohistoquímica. Esto podría ser útil en estudios postmortem.⁶¹

La limitación de esta técnica radica en que según la cepa de virus así va ser la cantidad de NS1

secretada, por lo tanto es cepa-dependiente.⁶¹

D. Detección de anticuerpos (IgM-IgG).

La detección de anticuerpos anti dengue (IgM e IgG) es la prueba más utilizada en el diagnóstico de dengue. Estos kits están disponibles ya sea en la forma de captura o detección directa de la inmunoglobulinas y están configurados para detectar IgM, IgG o ambos simultáneamente.

Hay dos versiones para detectar los anticuerpos y son a través del ELISA y por medio de la detección rápida por medio de tiras reactivas.⁴⁸

Los anticuerpos en la forma de anti dengue IgM pueden ser detectados a los 3 o 5 días del inicio de la enfermedad. Los niveles de IgM continúan aumentando por 2 semanas a partir de entonces, y pueden persistir elevados durante aproximadamente 179 y 139 días después de la infección primaria y secundaria, respectivamente. Mientras un título positivo de Ig M aumenta la posibilidad de que un paciente febril tenga dengue, el diagnóstico definitivo se realizara demostrando seriadamente los títulos en aumento de IgM.⁶⁴

Se han detectado títulos de IgM en otros flaviviurs, esto condiciona la presencia de falsos positivos en pacientes con episodios previos de dengue o malaria.⁶⁴

Durante la infección primaria, la IgG sólo se puede detectar después de 10 días a partir de inicio de la enfermedad, lo que es poco útil para el diagnóstico temprano. Sin embargo, el rápido aumento de los niveles de IgG durante la infección secundaria (tan pronto como 4 días de inicio de la enfermedad) puede ser sugestiva de dengue cuando se utiliza la relación de IgM e IgG.¹⁻⁶⁴

E. Detección de Anticuerpos Neutralizantes de Dengue.

Los anticuerpos neutralizantes inhiben la infección por virus de dengue y por lo tanto pueden proporcionar una mayor especificidad para distinguir anticuerpos de dengue de otros anticuerpos reactivos cruzados de flavivirus.⁶⁸

Estos anticuerpos se pueden medir mediante el uso de pruebas de neutralización por reducción de placas (PRNTs siglas del ingles), primero desarrollado por Russell et al y basado en el protocolo de Dulbecco et al. En la actualidad sigue siendo el método PRNT, el mas utilizado para realizar estudio inmunológicos.⁶⁹⁻⁷⁰

Sin embargo, es laborioso, consume tiempo y tiene bajo rendimiento, lo que lo convierte en un estudio que no se puede realizar rutinariamente para el diagnostico de dengue.

Nuevas pruebas como la prueba de microneutralización basado en ELISA (ELISA-MN) , el ensayo DC-Cell y el ensayo del punto de microneutralización basado en inmunoabsorción ligado a enzimas, se han desarrollado para superar las limitaciones asociadas con PRNT.⁷¹

Sin embargo, se requiere validación detallada para todos estos ensayos antes de que puedan

ser utilizados clínicamente.⁷¹

F. Detección de Complejos Antígeno-Anticuerpo.

Dada la naturaleza dinámica del antígeno NS1, la IgM anti-dengue y los niveles de anticuerpos IgG durante el curso agudo de la enfermedad, se han hecho esfuerzos para combinar las tres pruebas en una única reacción para la facilidad de uso. Algunos de ellos han sido evaluados y demostrado tener sensibilidad prometedora de diagnóstico (89-93%) y especificidad (75,0 a 100%).⁷⁰

Se está avanzando en usar técnicas portátiles para la detección de la enfermedad por dengue, sin embargo la sensibilidad y especificidad comparadas con las otras pruebas de laboratorio son muy bajas. Estas técnicas tendrán un futuro promisorio en cuanto se logre equiparar con las otras pruebas.⁴⁸⁻⁷⁰

1.4.5. BIOMARCADORES ACTUALES DE SEVERIDAD DE DENGUE.

Debido a la rápida expansión del dengue a lo largo del mundo, se ha hecho necesario investigar la relación entre severidad y la progresión de la enfermedad, es por eso que se han investigado varios biomarcadores que podrían usarse bajo esos objetivos y que son muy promisorios para el abordaje y manejo de esta enfermedad.

A. Proteína Soluble No Estructural 1 (NS1).

Los niveles de NS1 se han correlacionado con el nivel de viremia y usualmente se encuentra en parámetros altos en dengue grave, en comparación con paciente con dengue no complicado.

Niveles altos de NS1 en las primeras 72 horas de iniciada la fiebre predijeron el desarrollo de complicaciones al caer la fiebre. Se ha sugerido que la NS1 puede jugar un papel patogénico en el proceso de fuga capilar, a través de la activación del complemento y la generación de anafilotoxinas y el complejo terminal del complemento SC5b-9.⁷²

Los niveles plasmáticos de NS1 y SC5b-9 han demostrado que se correlaciona con la gravedad de la enfermedad, y estaban presentes en el líquido pleural de pacientes con SCD, junto con la anafilatoxina C5a. Anticuerpos de reacción cruzada NS1, han mostrado in vitro unirse a la membrana de las proteínas NS1, resultando en la citólisis mediada del complemento y la interrupción de las células endoteliales.⁷³

Sin embargo, se sabe que la cinética de antígeno NS1 puede estar influenciada por varios factores, incluyendo el serotipo infectante, con niveles más bajos observados en el serotipo 2 que en las infecciones por serotipo 1, así como también la inmunidad del huésped, con tiempos de eliminación más rápidos, visto en infecciones secundaria que en las infecciones primarias. Esto hace que por si solo

la NS1 pueda afectar su utilidad como potencial biomarcador.⁷²

Numerosos estudios han investigado las asociaciones entre los niveles alterados de citoquinas circulantes y la activación de complemento con la gravedad del dengue.⁷²

Sin embargo, la interpretación de los datos es difícil, ya que la mayoría de los estudios son pequeños, y tienden a confundir por las variaciones de serotipos y las diferencias en los niveles de viremia, la edad y el estado inmunológico de los pacientes, y el tiempo de muestreo durante la evolución de la infección. Además, es posible que los parámetros de interés son influenciados por el grado de fuga capilar, haciendo comparaciones de las mediciones de plasma entre grupos de gravedad poco fiables.²⁹⁻⁷²

Tabla 2
Parámetros Inmunológicos que podrían ser utilizados como posibles biomarcadores.

Inmunomarcador	Fase de la Enfermedad	Comentarios
Niveles elevados		
IL-4, IL-6, IL-8, IL-10	Elevado durante la fase febril, leerlo alrededor de desaparición de la fiebre	Los niveles elevados en pacientes con SCD en comparación con aquellos con FD, que se correlacionaban con los marcadores de gravedad de la enfermedad. La IL-10 correlaciona con el grado de trombocitopenia.
TNF α , sTNFR-75, sTNFR-80	Elevados en fase febril	Niveles elevados en dengue grave en comparación con enfermedad leve. La correlación positiva con la gravedad de la enfermedad. TNFRs predijo niños que posteriormente desarrollaron SCD.
IFN- γ	Elevado en fase febril temprana, con un pico antes de la desaparición de la fiebre.	Se asoció FHD con los niveles altos de IFN- γ . Asociado con el desarrollo de enfermedad grave.
MIP-1b, G-CSF, IP-10, MCP-1	Elevado en la fase febril temprana hasta la desaparición de la fiebre.	En comparación con un grupo control sano, MIP-1b y G-CSF estaban elevados en los pacientes con dengue sin complicaciones; MCP-1 en el dengue con signos de alarma; e IP-10 en ambos grupos.
C3a, C4a, C5a, Factor D	Elevado en fase aguda	Elevado en FHD, comparado con FD.
Complejo SC5b-9 terminal de complemento	Elevado en la enfermedad aguda, con un pico días después de la desaparición de la fiebre.	Los niveles más altos se demostraron en DF / DH en comparación con el OEF, y correlacionado con la gravedad de dengue.
Niveles disminuidos		
RANTES/CCL5	Los niveles reducidos durante la fase aguda.	Reducido durante la fase aguda en pacientes con dengue en comparación con un grupo de control sano, y se correlacionó con trombocitopenia.
IL1-b, IL-2, EGF	Los niveles reducidos durante la fase febril.	No se demostró ninguna diferencia entre los grados de gravedad para IL-1b pero había niveles

		significativamente más bajos de IL-2 y VEGF en comparación con SCD y FD. Hay informes contradictorios de los niveles de VEGF.
VEGF, VEGFR2	Niveles alterados de VEGF y VEGFR2 alrededor del día de desaparición de la fiebre.	Un estudio demostró reducir los niveles de VEGF en comparación con DSS DF desde 2 días antes hasta 2 días después de la desaparición de la fiebre. Otros estudios han demostrado que los niveles elevados de VEGF en FHD en comparación con el FD , y un estudio adicional demostró niveles elevados de VEGF libre en DHF en el momento de la pérdida de plasma, y redujo los niveles de VEGFR2.
C3, factor H	Los niveles reducidos durante el dengue aguda.	Los niveles reducidos fueron encontrados en pacientes con dengue hemorrágico en comparación con aquellos con FD y controles sanos.

C, complemento; **FD**, fiebre por dengue; **FHD**, fiebre hemorrágica del dengue; **SCD**, síndrome de choque por dengue; **EGF**, factor de crecimiento epidérmico; **G-CSF**, granulocitos factor estimulante de colonias; **IFN**, interferón; **IL**, interleucina; Proteína **IP**, el interferón- γ inducida; **MCP**, proteína quimiotáctica de monocitos; **MIP**, proteína inflamatoria de macrófagos; **OEF**, otra enfermedad febril; **RANTES / CCL5**, activación regulada de células T normales expresadas y secretadas / quimiocina (motivo CC) ligando 5; **TNF**, factor de necrosis tumoral; **TNFR**, receptor del factor de necrosis tumoral soluble; **VEGF**, factor de crecimiento endotelial vascular; **VEGFR**, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.

Fuente: Adaptado de Yacoub and Wills, Predicting outcome from dengue, BMC Medicine 2014, 12:147.

B. Marcadores de Daño Endotelial y de Alteraciones Microvasculares.

Debido a que las infecciones por dengue tienen como objetivo el daño en sistema vascular, pueden existir una razón biológica para investigar nuevos marcadores que estén implicados en la lesión endotelial.

Se ha demostrado que la molécula soluble de adhesión intercelular-1 (**sICAM-1**) y la molécula soluble de adhesión celular vascular-1 (**VCAM-1**) se encuentran en niveles aumentados en pacientes con dengue en comparación con los controles y que se correlacionan con la severidad de la enfermedad.⁷⁵ Del mismo modo, la VCAM-1, ICAM-1 y la E-selectina se comportaron presentando aumentos en sus niveles en pacientes con dengue en comparación con los pacientes con otra enfermedad febril 1 día antes de la desaparición de la fiebre.⁷⁵

La Trombomodulina soluble, un marcador no específico de la activación endotelial, también se encontró que aumenta de 2 a 3 días antes de la desaparición de la fiebre en ese estudio, y que se correlacionaba con la gravedad de la enfermedad.⁷⁵ Angiopoyetina-2 es una proteína secretada a partir de células endoteliales en respuesta a estímulos inflamatorios, que antagoniza la angiopoyetina-1, una proteína necesaria para mantener la función eficaz de la barrera microvascular.

En un estudio, los niveles reducidos de la angiopoyetina-1 y el aumento de los niveles de angiopoyetina-2 se presentaron en pacientes de dengue al ingreso hospitalario en comparación con los niveles obtenidos al alta y también en comparación con los niveles observados en los controles sanos, y

estos cambios correlacionaron con pérdida de plasma y gravedad de la enfermedad.⁷⁶

Además de los marcadores de activación endotelial, algunos estudios han examinado los factores más directamente relacionados con la alteración de la barrera endotelial. Aunque el examen morfológico ha revelado cambios no específicos de poca importancia en la estructura microvascular, el aumento de células endoteliales circulantes (**CEC**) se han presentado en pacientes con dengue, con niveles que se correlacionan con severidad.⁷⁵⁻⁷⁷

Se sabe que la NS1 y la envoltura del virus del dengue se une al glucocalix para liberar sulfato de heparan (sustancia esencial en la patogénesis del dengue severo) lo ocasionaría una disrupción en el endotelio vascular y por consiguiente un aumento en la permeabilidad del mismo.

La evidencia preliminar sugiere que los niveles circulantes de sulfato de heparán podrían utilizarse para estratificar la evolución de la enfermedad, sin embargo aun no ha sido posible poder identificar esta relación.⁷⁸

Actualmente, no se conoce el papel de las micro partículas endoteliales en la patogénesis de la disfunción microvascular en dengue. Sin embargo, en un estudio, micro partículas derivadas de plaquetas (PMPs siglas en ingles) ricos en IL-1b se correlacionados con signos de la permeabilidad vascular en pacientes con dengue, y las PMPs fueron encontradas como inductores en la permeabilidad vascular *in vitro* de una manera dependiente de IL1.⁷⁹

Las desventajas de momento que tienen estos prometedores potenciales biomarcadores es que debido a su complejidad no son fáciles de poner en la practica diaria, mucho menos durante el desarrollo de una epidemia.

1.4.6. PREVENCIÓN.

A. Control de vectores.

De momento a pesar de los avances tecnológicos y los prometedores tratamientos que se han propuesto, todavía nada ha sido tan efectivo para controlar las epidemias de dengue así como también para reducir la incidencia a dengue grave, como lo es la estrategia preventiva.

La prevención o reducción de la transmisión del virus del dengue depende enteramente del control de los mosquitos vectores o la interrupción del contacto humano-vector.

Las acciones para controlar la transmisión deben estar dirigidas a erradicar al principal vector *Ae. aegypti* en los hábitats de sus etapas inmaduras y adultas, en las viviendas y alrededores, así como en otros lugares donde se presenta el contacto humano- vector (escuelas, hospitales y lugares de trabajo), a menos que exista sólida evidencia de que otras especies de mosquito sean los vectores locales del dengue.¹

El manejo integrado de vectores es el método estratégico para el control de vectores promovido por la OMS e incluye el control de los vectores del dengue.¹⁻⁸⁰

El control del *Ae aegypti* se logra principalmente eliminando los recipientes que son hábitats favorables para la oviposición y que permiten el desarrollo de las etapas acuáticas.

Los hábitats se eliminan evitando el acceso de los mosquitos a estos recipientes o vaciándolos y limpiándolos con frecuencia, eliminando las etapas evolutivas con el uso de insecticidas o agentes de control biológico, eliminando con insecticidas los mosquitos adultos o mediante las combinaciones de estos métodos.¹⁻⁸⁰

Al seleccionar el método de control de vectores más apropiado, o la combinación de métodos, se debe tener en cuenta la ecología local y la conducta de las especies seleccionadas, los recursos disponibles para la implementación, el contexto cultural en el que se llevan a cabo las intervenciones, la factibilidad de aplicarlas de manera oportuna y la adecuación de la cobertura.⁸⁰

El *Aedes a* tiene una variedad de hábitats larvarios tanto artificiales como naturales, los cuales pueden variar en cuanto a la cantidad en la producción de larvas, por lo que los esfuerzos de erradicación deben ir dirigidos a estos sitios de mayor producción.⁸⁰

B. Métodos de control de vectores.

El manejo ambiental busca cambiar el ambiente con el fin de prevenir o minimizar la propagación de los vectores y el contacto humano con el patógeno del vector, destruyendo, alterando, eliminando o reciclando los recipientes no esenciales que sirven de hábitats larvarios.

Hay tres tipos de manejo ambiental

Modificación ambiental: transformaciones físicas duraderas para reducir los hábitats larvarios del vector, tales como la instalación de un sistema confiable para el suministro de agua corriente, incluyendo las respectivas conexiones a las viviendas.¹

Manipulación ambiental: cambios temporales de los hábitats del vector, que abarca el manejo de recipientes “esenciales”, tales como vaciar, limpiar y restregar frecuentemente las vasijas de almacenamiento de agua, envases de flores y equipos de aire acondicionado en las habitaciones; limpieza de canales; protección contra la lluvia de las llantas almacenadas; reciclaje o eliminación apropiada de los recipientes desechados; manejo o eliminación en los alrededores de los domicilios de plantas ornamentales o bromeliáceas silvestres, que acumulan agua en las axilas de las hojas.¹

Cambios en los hábitos o conducta de los seres humanos: acciones para reducir el contacto humano-vector, tales como la instalación de mallas o cedazos contra mosquitos en las ventanas, puertas y otros puntos de entrada, y el uso de mosquiteros cuando se duerme durante el día.¹

C. Control Químico: Larvicidas.

A pesar de que los químicos se utilizan ampliamente para tratar los hábitats de larvas de *Ae. aegypti*, el uso de larvicidas debe considerarse un método complementario al manejo ambiental y (excepto en emergencias) debe restringirse a los recipientes que no se pueden eliminar ni manejar de otra forma. Puede resultar poco práctico aplicar larvicidas en sitios naturales de difícil acceso, como las axilas de las hojas y las oquedades de los árboles, que son hábitats frecuentes de *Ae. albopictus*, o en pozos profundos. Una importante limitación para la aplicación de larvicidas en muchos contextos urbanos, es la dificultad del acceso a los hábitats de larvas de *Ae. aegypti* en el interior de las viviendas (recipientes para almacenar agua, macetas y sus platos).⁸⁰

Para el tratamiento de agua potable se pueden aplicar temefos y metopreno en dosis de hasta 1 mg del ingrediente activo (a.i.) por litro (1 ppm); se puede aplicar piriproxifeno en dosis de hasta 0.01 mg a.i. por litro (0.01 ppm) y de 1 a 5 mg de *Bti* por litro.¹⁻⁸²

Debido a que *Ae. aegypti* frecuentemente deposita los huevos en recipientes para almacenar agua, los larvicidas deben tener una baja toxicidad para otras especies y no deben cambiar significativamente el sabor, olor ni color del agua.

El Programa Internacional sobre Seguridad Química ha evaluado la toxicidad de los ingredientes activos de metopreno, piriproxifeno y temefos, así como los de *Bacillus thuringiensis serovar israelensis (Bti)*, para determinar la seguridad de su uso como larvicidas de mosquitos en agua potable en dosis que son efectivas contra las larvas de *Aedes*. Sin embargo, la seguridad de los ingredientes activos en la fórmula final varía de un producto a otro y requiere mayores estudios, como también lo requieren los posibles contaminantes microbiológicos en la formulación de *Bti*.¹⁻⁸¹

El ciclo del tratamiento depende de la especie de mosquito, la estacionalidad de la transmisión, los patrones de precipitación, la duración de la eficacia del larvicida y los tipos de hábitat larvario. Puede ser suficiente la aplicación oportuna de dos o tres rondas anuales con supervisión apropiada de la eficacia, especialmente en las áreas donde el período principal de transmisión es corto.⁸¹

D. Control Químico: Adulticidas.

Los métodos de control químico dirigidos a los vectores adultos tienen la finalidad de impactar las densidades del mosquito, así como la longevidad y otros parámetros de transmisión. Los adulticidas se aplican en forma de tratamientos residuales de superficie o como tratamientos espaciales.¹⁻⁸²

La fumigación espacial sólo se recomienda en el control de situaciones de emergencia para detener una epidemia en proceso o para prevenir una epidemia en su primera fase o que se está iniciando. El objetivo de la fumigación espacial es la destrucción masiva y rápida de la población de vectores adultos.⁸² Sin embargo, ha habido mucha controversia en relación con la eficacia de las aplicaciones de insecticidas en forma de aerosoles durante las epidemias de dengue y fiebre amarilla.¹⁻⁸²

Cualquier método de control que reduzca el número de mosquitos adultos infecciosos incluso por corto tiempo, debe reducir la transmisión del virus durante ese tiempo, pero todavía no está claro si el impacto transitorio de los tratamientos espaciales es epidemiológicamente significativo a largo plazo.¹ No hay ningún ejemplo bien documentado de la efectividad que tiene este método para interrumpir una epidemia. No obstante, si la fumigación espacial se utiliza en la primera fase de una epidemia y a escala suficientemente grande, se puede reducir la intensidad de la transmisión, lo que daría tiempo a la aplicación de otras medidas de control de vectores que proporcionan control a largo plazo, incluyendo larvicidas y la reducción de criaderos con base comunitaria. Por lo tanto, si la vigilancia de la enfermedad es lo suficientemente sensible para detectar los casos en las etapas tempranas de una epidemia, y si hay recursos disponibles, se puede iniciar la fumigación espacial de emergencia al mismo tiempo que se intensifican la aplicación de larvicidas y las medidas de reducción de las fuentes.¹⁻⁸²

Comúnmente se practica el tratamiento espacial selectivo hasta a 400 metros de distancia de las casas en donde se han notificado casos de dengue (algunas veces llamado "fumigación perifocal").¹

La selección del insecticida para la fumigación espacial en las viviendas y a su alrededor debe basarse en su impacto ambiental inmediato y la conformidad de la comunidad. Para la aplicación de nieblas calientes, sólo se deben utilizar productos insecticidas con altos puntos de inflamación. Las formulaciones de rociado espacial generalmente son a base de aceite, ya que el portador de aceite inhibe la evaporación de pequeñas gotas de niebla. El combustible diesel ha sido usado como un portador para los agentes de niebla caliente, pero crea humo denso, tiene un fuerte olor y crea depósitos aceitosos que pueden provocar que la comunidad rechace su uso. También se encuentran disponibles las formulaciones a base de agua, algunas de las cuales contienen sustancias que evitan la rápida evaporación.¹

Cuando es esencial una rápida reducción de la densidad del vector, como ocurre en el caso de emergencias, lo ideal es que el tratamiento espacial se lleve a cabo cada 2 a 3 días durante 10 días. Las aplicaciones adicionales se deben, entonces, realizar una o dos veces por semana para mantener la supresión de la población del vector adulto.¹

E. Protección Individual y de las viviendas.

Especialmente durante los brotes, se recomienda el uso de ropa que minimice la exposición de la piel durante las horas del día en que los mosquitos son más activos, lo cual brinda alguna protección contra las picaduras de los vectores del dengue.¹

Se pueden aplicar repelentes en la piel expuesta o en la ropa. Los repelentes deben contener DEET (N, N-dietil-3-metilbenzamida), IR3535 (3-[N-acetil-N-butil]-éster etil ácido aminopropiónico) o Icaridina (ácido-1 piperidinecarboxílico, 2-(2-hidroxietyl)- 1-metilpropylester). Los repelentes deben usarse con estricto cumplimiento de las instrucciones de la etiqueta. Los mosquiteros tratados con

insecticida brindan una buena protección a las personas que duermen durante el día (por ejemplo, infantes, personas postradas en cama y trabajadores con turnos nocturnos).¹⁻⁸⁰

La instalación doméstica de mallas o cedazos en ventanas y puertas, y el aire acondicionado, también pueden reducir las picaduras de mosquitos.

F. Control Biológico.

El control biológico se basa en introducir organismos que depredan, parasitan, compiten o de otra forma reducen las poblaciones de las especies objetivo. Sólo ciertas especies de peces larvivoros y copéodos crustáceos (*Copepoda Cyclopoidea*) –pequeños crustáceos de agua dulce– han demostrado ser efectivas contra los vectores *Aedes* del dengue en el contexto de operaciones en hábitats de recipientes específicos, y aun así, muy pocas veces han sido efectivos a gran escala. Aunque el control biológico evita la contaminación química del ambiente, pueden existir limitaciones operativas, como el costo y la tarea de criar los organismos a gran escala, dificultad para aplicarlos y su limitada utilidad en sitios acuáticos donde la temperatura, el pH y la contaminación orgánica pueden exceder las escasas necesidades del organismo.⁸³⁻⁸⁵

Los métodos de control biológico sólo son efectivos contra las etapas inmaduras de los mosquitos vectores en el hábitat larvario donde se introducen.

En muchos países se han utilizado diversos peces para eliminar mosquitos en contenedores grandes usados para almacenar agua potable, y en pozos abiertos de agua dulce, acequias de concreto y tanques industriales. La especie vivípara *Poecilia reticulata* (figura 11) se adapta bien a cuerpos de agua no corriente y se ha utilizado con mayor frecuencia. Sólo se deben usar peces larvivoros nativos debido a que las especies exóticas pueden escapar hacia los hábitats naturales y amenazar la fauna autóctona.⁸⁵

Varias especies de copéodos depredadores también han demostrado ser efectivas contra los vectores del dengue en situaciones operativas. Sin embargo, aunque las poblaciones de copéodos pueden sobrevivir por períodos prolongados, al igual que los peces, puede ser necesario introducirlas para su control sostenido. En Vietnam del norte, con un programa de control de vectores usando copéodos en grandes tanques de almacenamiento de agua, en combinación con la reducción de la fuente, se eliminó exitosamente *Ae. aegypti* en muchas comunas y ha evitado la transmisión del dengue durante varios años.⁸³⁻⁸⁴

Figura 6
Agentes biológicos para el control de vectores.



Copépedo depredador y *Poecilia reticulata*

Fuente: [https://www.google.co.cr/Facquariofiliaconsapevole.it%2Ffoto-Copepodo depredar y Poecilia reticulata](https://www.google.co.cr/Facquariofiliaconsapevole.it%2Ffoto-Copepodo+depredar+y+Poecilia+reticulata).

G. Nuevos Horizontes en el Control de Vectores.

Los nuevos enfoques de control de vectores incluyen la liberación de mosquitos machos genéticamente modificados que esterilizan la población femenina de tipo salvaje, lo que reduce la producción de huevecillos y el tamaño de la población de la próxima generación del virus del dengue que estaría disponible para la transmisión potencial. Una estrategia alternativa implica introducción de embriones de cepas de la bacteria intracelular *Wolbachia* en *A. aegypti*.⁸⁶⁻⁸⁷

Sorprendentemente, los *A. aegypti* infectados por *Wolbachia* son parcialmente resistentes a la infección por virus dengue y puede invadir naturalmente al *A. aegypti*, lo que sugiere la posibilidad de inducción de resistencia biológica generalizada a los virus del dengue en las poblaciones de *A. aegypti*.⁸⁶⁻⁸⁷

1.4.7. MANEJO TERAPÉUTICO.

A. Nuevas Terapias.

Actualmente, el control de vectores, considerado como costoso y algunas veces ineficaz, es el único método para la prevención de enfermedades producidas por el dengue.

En ausencia de vacunas disponibles y medicamentos antivirales contra la infección por virus del dengue, el tratamiento específico para pacientes con dengue consisten principalmente en terapia de soporte incluyendo el reposo en cama, antipiréticos y analgésicos.¹⁶

La reanimación urgente con líquidos intravenosos para reemplazar el volumen intravascular en pacientes con síndrome de choque asociado a dengue es un requisito previo; Lactato de Ringer ha demostrado ser eficaz en dengue moderadamente grave, sin embargo no hay diferencia en cuanto a

mortalidad al utilizar otros cristaloides y el almidón o dextrano se han sugerido para los casos más graves.¹⁷⁻¹⁹

El diseño de nuevos enfoques terapéuticos para la enfermedad del dengue se ha centrado en las diferentes etapas del ciclo de replicación viral.¹⁶

Los cambios conformacionales de la proteína E y su interacción con la proteína M han sido de gran interés. Estos estados de transición presentan oportunidades para desarrollar antivirales haciendo énfasis en los pasos de entrada, de ensamblaje o de maduración del ciclo de vida del virus.¹⁶ Péptidos antivirales han sido diseñados y probados para el bloqueo de la entrada del virus del dengue y el virus del Nilo Occidental (VNO) con resultados positivos, lo que indica que los péptidos antivirales podrían ser una forma prometedora de la terapia contra el virus del dengue.¹⁶

Otro enfoque para inhibir los cambios estructurales de la proteína E y la proteína M ha sido la síntesis de péptidos que imitan el péptido precursor de la proteína M, evitando de este modo la fusión de membrana y la liberación de los viriones recién sintetizados. La proteasa viral es otro blanco interesante para el descubrimiento antiviral, ya que las proteasas son comunes en la mayoría de los virus y generalmente son importantes para la replicación eficiente. Inhibidores de la proteasa de la hepatitis C (VHC) pueden eventualmente desarrollarse más para inhibir la proteasa del virus del dengue.¹⁶

Los análogos de nucleótidos son generalmente profármacos que necesitan ser convertidos a nucleótidos de acción antiviral. La ribavirina (1-BD-ribofuranosil-1H-1, 2, 4-triazol 3-carboxamida) posee actividad antiviral de amplio espectro y se utiliza en combinación con interferon para combatir la infección por virus de hepatitis C. La ribavirina agota la piscina de nucleótidos y con ello indirectamente bloquea las actividades de la polimerasa en las proteínas celulares y virales. Además, la ribavirina causa una replicación más propensa a errores en el genoma viral. A pesar de éxito en los resultados in vivo con varios virus de ARN, la ribavirina tiene un efecto citostático en las células infectadas con virus del dengue y no ha sido eficaz en modelos animales.¹⁶

Terapias basadas en ácidos nucleicos ofrecen varias alternativas. La interferencia de ARN se piensa que es para proteger al huésped de infecciones virales por la degradación del material genético extraño tal como lo es RNA viral. Se han utilizado en el manejo terapéutico para varias enfermedades infecciosas, tumorales y trastornos metabólicos. Sin embargo tienen una gran limitante y es que el ARN de los flavivirus son resistentes a la interferencia de su ARN.¹⁶

Otro antiviral basado en ácidos nucleicos es el ARN antisentido (que es la hebra complementaria (*no codificadora*) de una secuencia de ARNm (*codificadora*) como por ejemplo, los oligómeros de morfolino fosforodiamidato (PMOs). Estos compuestos actúan mediante la formación de un duplicado de una secuencia específica de ARN, bloqueando así el acceso al ARN diana por biomoléculas necesarias para la replicación. Se ha visto que los PMOs dirigidos al sitio de iniciación de la traducción del ARN del virus del dengue eran eficaces en la reducción de la carga viral en diversas líneas celulares.¹⁶

También los polisacáridos sulfatados han sido investigados por la actividad contra el virus del dengue, aunque la inconsistencia en los resultados de la actividad indica que tienen que seguir pruebas, tanto in vitro como in vivo.¹⁶

B. Vacunas contra dengue.

A diferencia de otras enfermedades virales, no ha sido posible desarrollar una vacuna contra el virus del dengue, esto por que la vacunación debe proteger contra los cuatro serotipos sin predisponer la potencialización mediada por anticuerpos y esto ha demostrado ser difícil de diseñar. Casi 80 años de investigación y desarrollo relacionados con vacunas han pasado, y más de 25 vacunas contra el virus del dengue se han probado en ensayos clínicos durante la última década.¹⁻¹⁶

Para ser segura, una vacuna contra el dengue debe ser funcionalmente tetravalente, provocando protección simultánea contra los cuatro serotipos del virus del dengue. Por lo tanto, la vacunación no puede proceder de una manera secuencial análoga, y aquí radica el mayor obstáculo.¹⁶⁻⁸⁹

Actualmente, hay varios ensayos de vacunación contra el virus del dengue en diferentes etapas de desarrollo preclínico o clínico. El estudio clínico mas avanzado actualmente es desarrollado por Sanofi Pasteur (CYD-TDV), la vacuna ChimeriVax , es una formulación tetravalente de la vacuna contra cepas de fiebre amarilla atenuadas que expresan las proteínas M y E del virus del dengue.⁹²

Actualmente se encuentra en evaluación en fase II y fase III de los estudios clínicos. La Fase III se desarrolla en países de Asia y Latinoamérica.**(16-90)**

Estos estudios multicéntricos en una variedad de escenarios epidemiológicos serán importantes para obtener datos respecto a la eficacia y seguridad, y arrojarán más luz sobre la relación entre la respuesta inmune inducida por la vacuna y la protección contra la enfermedad del dengue.¹⁶⁻⁹⁰

Otros enfoques tecnológicos incluyen vacunas de partículas virales vectorizadas que son similares al virus, que actualmente se están probando en estudios preclínicos. Se espera que los ensayos clínicos evaluando nuevas proteínas de subunidades recombinantes, el ADN y las vacunas vectorizadas se inicie en los próximos años.⁹¹

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS DEL ESTUDIO

2.1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional descriptivo, transversal retrospectivo de expedientes médicos.

2.2. ÁREA DE ESTUDIO

Pacientes atendidos en el Servicio de Emergencias del Hospital de San Vicente de Paul (HSVP) con el diagnóstico de egreso de dengue entre 1 de Enero del 2010 al 31 de Diciembre del 2014.

2.3. MUESTRA

La muestra de pacientes se obtuvo del total de pacientes que se egresaron con el diagnóstico de dengue durante los 4 años del estudio y que fueron atendidos en el Servicio de Emergencias del HSVP.

2.3.1. TAMAÑO DE MUESTRA

La muestra se obtuvo con el programa Winepiscopo 2.0. Para obtener una muestra con un nivel de confianza de un 95% y un error aceptado de un 5% se requerían 250 pacientes.

Figura 7
Cálculo de tamaño muestral para Nivel de Confianza del 95%.

% Prevalencia Esperada	% Nivel de Confianza				
	90	95	97.5	99	99.5
0	1	1	1	1	1
10	90	123	156	197	226
20	150	201	249	307	346
30	189	250	305	370	414
40	211	277	336	404	449
50	218	285	345	414	460
60	211	277	336	404	449
70	189	250	305	370	414
80	150	201	249	307	346
90	90	123	156	197	226
100	1	1	1	1	1

Fuente: Programa Winepiscopo 2.0.

Se presentaron 1100 pacientes con el diagnóstico de dengue clásico al Servicio de Emergencias del HSVP entre 2010 al 2014. Se trató de obtener una muestra aleatoria donde se incluyeran un total

de al menos 200 pacientes. Estos pacientes se dividieron en dos grupos: 100 pacientes con niveles de plaquetas mayores a cincuenta mil y 100 pacientes con plaquetas menores a 50 mil, escogidos de acuerdo a ese criterio de forma aleatoria.

La Muestra total obtenida fue de 215 pacientes. Se excluyeron 15 pacientes por no cumplir con los criterios de inclusión, entre ellos 12 por tener plaquetas mayores de 100 mil y 3 con otros diagnósticos como trombocitopenia en estudio y enfermedad tipo influenza.

Como se obtuvo una muestra de 200 pacientes; este estudio tiene un nivel de confianza de aproximadamente un 92% con un error aceptado de un 5%.

Figura 8
Cálculo de tamaño muestral para Nivel de Confianza del 90%.

% Prevalencia Esperada	% Nivel de Confianza				
	90	95	97.5	99	99.5
0	1	1	1	1	1
10	90	123	156	197	226
20	150	201	249	307	346
30	189	250	305	370	414
40	211	277	336	404	449
50	218	285	345	414	460
60	211	277	336	404	449
70	189	250	305	370	414
80	150	201	249	307	346
90	90	123	156	197	226
100	1	1	1	1	1

Fuente: Programa Winepiscopo 2.0.

2.4. DEFINICIONES OPERACIONALES.

2.4.1. VARIABLES DEL ESTUDIO.

Plaquetas al ingreso: Se tomará el dato del resultado del examen de laboratorio que se encuentra en el expediente.

Signos vitales al ingreso: Presión Arterial Media en milímetros de mercurio (mmHg).

Presencia de complicaciones: Se indicará si el paciente presentó o no presentó complicaciones.

Tipo de complicaciones: Se transcribirán todas las complicaciones que haya presentado el paciente (enlistadas en la hoja de recolección de datos).

Hemoconcentración: Hematocrito mayor de 50%.

Días estancia hospitalaria: Se tomará del expediente la fecha de ingreso y egreso y con esos dos datos se calcularán los días de estancia.

Síndrome febril: es la elevación de la temperatura corporal a más 38°C de forma anormal, que se acompaña de escalofríos, malestar general, anorexia y cefalea.

2.4.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Pacientes ingresados en el Servicio de Emergencias con diagnóstico de Síndrome febril y manifestaciones clínicas sugestivas de dengue.

Recuento plaquetario menor de cien mil.

Serología positiva por dengue.

Pacientes mayores de 12 años.

2.4.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Zonas ajenas al área de atracción del Hospital San Vicente de Paul, Heredia.

Pacientes con trombocitopenia de causa no asociada a dengue.

Expedientes que no tengan mas del 50% de las variables del estudio

2.5. METODOLOGÍA EN LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

Se solicitó la lista del número total de pacientes con diagnóstico de dengue que ingresaron al Servicio de Emergencias durante el periodo del estudio. Estos pacientes se encontraron en la base de datos de registros médicos del Hospital San Vicente de Paul.

2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

2.6.1. MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS.

Se estimó la tasa de incidencia de complicaciones con su respectivo intervalo de confianza al 95% en los dos grupos estudiados.

Se compararon los tipos de complicaciones y los posibles factores de riesgo entre los grupos de

| pacientes con plaquetas mayores y menores a 50 mil.

| Los resultados de las comparaciones de variables se sometieron a pruebas de significancia estadística, para las variables nominales se aplicó el Chi-Cuadrado, bajo la Hipótesis nula de Independencia, para las métricas análisis la pruebas t para valorar diferencias de promedios.

Se realizó un análisis univariado de las variables de interés. Se obtuvieron odds ratio con sus respectivos intervalos de confianza para la comparación de grupos. La información se presentó en cuadros y gráficos.

En ambos análisis se considerará significativo cuando se obtuvieron valores de p inferiores a 0.05 con un nivel de confianza de un 95%.

2.6.2. MEDICIONES Y ESTIMACIONES.

Se estimará la tasa de prevalencia de complicaciones con su respectivo intervalo de confianza al 95% en los dos grupos estudiados y se compararán las dos tasas.

2.6.3. PODER ESTADÍSTICO.

El poder estadístico deseado fue de un 80%.

CAPITULO 3: RESULTADOS DEL ESTUDIO.

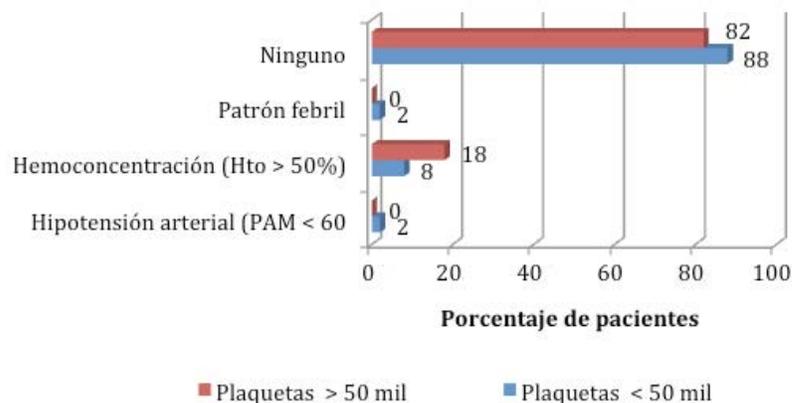
Se obtuvo la información del Servicio de Registros Médicos del Hospital de Heredia, en donde se revisaron 215 expedientes de pacientes con diagnóstico de dengue; se confirmó en 213 pacientes el diagnóstico serológico de dengue y en los 2 pacientes restantes, otros diagnósticos (“trombocitopenia en estudio” e “infección tipo influenza”).

Se excluyeron 12 pacientes por no cumplir criterios de inclusión. De estos expedientes se logró obtener una muestra de 200 pacientes que calificaron para ser sujetos de análisis. Es importante aclarar que de los 200 pacientes analizados, solo uno falleció y como causal de muerte se documentó choque séptico secundario a infección bacteriana; hubo otro paciente que presentó miocardiopatía por dengue, ambos siempre mantuvieron conteos plaquetarios por encima de 50 mil.

Del total de los pacientes estudiados 123 (57%) correspondieron a mujeres y 92 (43%) hombres, cuya edad osciló desde los 12 años hasta los 79 años, con una edad media de 43 años.

De las áreas de salud adscritas al Hospital de Heredia, las que tuvieron mayor número de pacientes fueron las Áreas de Sarapiquí así como también el Área de Salud de Río Frio (69 y 49 pacientes respectivamente), el resto de los participantes provenían del Área de Salud Central de Heredia y alrededores. (97 pacientes)

Gráfico 1
Factores de Riesgo Asociados a Desarrollar Complicaciones en Dengue.



Fuente: Hoja de recolección de datos.

Con relación a los factores de riesgo, el más frecuente fue la hemoconcentración, el cual se presentó con una mayor prevalencia en el grupo de pacientes con plaquetas mayores a 50 mil, con un

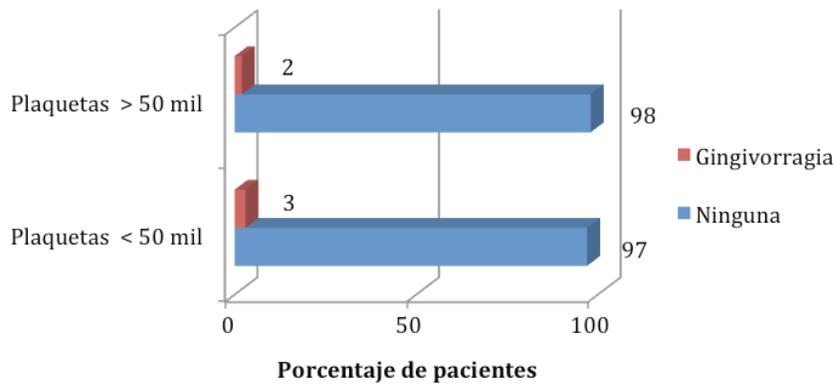
valor de p de 0,036. Se calculó el OR para la hemoconcentración siendo de 2,25 (I.C.95%: 1,02 - 4,9)

Tabla 1 Complicaciones Presentadas en Pacientes con Diagnóstico de Dengue.

Complicaciones	Plaquetas < 50 mil		Plaquetas > 50 mil		Total
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	
Ninguna	97	97	98	98	195
Gingivorragia	3	3	2	2	5
Total	100	100	100	100	200

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Gráfico 2
Incidencia de Complicaciones Presentadas en Pacientes con Diagnóstico de Dengue.



Fuente: Hoja de recolección de datos

No hubo relación significativa entre el conteo plaquetario establecido y las complicaciones en pacientes con dengue; la complicación observada con mayor frecuencia fue la gingivorragia la cual se presentó en ambos grupos de recuentos plaquetarios, con un porcentaje de incidencia realmente bajo, entre 3% y 2% para los pacientes con plaquetas menores a 50 mil y los mayores a 50 mil respectivamente.

Tabla 2
Porcentaje de Estancia Hospitalaria en pacientes ingresados con dengue al Hospital de Heredia.

Estancia hospitalaria (días)	Plaquetas < 50 mil		Plaquetas > 50 mil		Total
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	
1	1	1	2	2	3
2	0	0	24	24	24
3	4	4	40	40	44
4	23	23	23	23	46
5	24	24	4	4	28
6	33	33	1	1	34
7	11	11	4	4	15
8	2	2	0	0	2
9	0	0	2	2	2
10	2	2	0	0	2
Total	100	100	100	100	200

Fuente: Hoja de recolección de datos

Tabla 3
Promedio y Desviación Estándar de Estancia Hospitalaria (días) en pacientes ingresados con dengue al Hospital de Heredia distribuidos según cantidad de plaquetas.

Plaquetas	N	Media	Desv. Est.
< 50 mil	100	5,4	1,4
> 50 mil	100	3,3	1,4

Fuente: Hoja de recolección de datos

Uno de los resultados mas significativos fue la considerable diferencia que se presentó en cuanto a los días estancia hospitalaria.

El grupo que tuvo plaquetas por debajo de 50 mil llevo requerir mas días de hospitalización, en promedio 5,4 días, a diferencia de lo mostrado en el grupo que presentó recuento de plaquetas mayores a 50 mil en donde el promedio de estancia llevo a ser de 3,3 días.

CAPITULO 4: DISCUSION DE RESULTADOS

En este trabajo hemos investigado la relación que existe entre los niveles de plaquetas y la aparición de complicaciones asociadas a infecciones por dengue que se presentaron en el Hospital de Heredia entre enero del 2010 y diciembre del 2014.

Se dispuso estudiar pacientes con plaquetas mayores de 50 mil y menores de 50 mil y relacionar el nivel de plaquetas con complicaciones previamente enlistadas en la hoja de recolección de datos, esto debido a que generalmente se ha asociado la trombocitopenia menor de 50 mil con complicaciones hemorrágicas^{1,95,97}, a pesar de que el criterio de hospitalización según la guía de la OMS son 100 mil plaquetas.

De la población estudiada se obtuvo un 3 % de complicaciones en el grupo de menos de 50 mil y 2% en el grupo de mayores de 50mil, cabe resaltar que el tipo de complicación que se presento correspondió a eventos leves de gingivorragia, muy característico en pacientes con dengue por diapedesis de los eritrocitos alrededor de los pequeños capilares, si se presentara un sangrado mayor usualmente ocurre del tracto gastrointestinal sin embargo esto no sucedió en este trabajo, de hecho en cuanto al paciente que se complicó (con una infección secundaria) nunca presento plaquetas menores de 50 mil.

Al igual que en otros trabajos, las complicaciones hemorrágicas menores se presentaron por sangrados de mucosas y en relación a la presentación de sangrados mayores la mayoría fueron de origen gastrointestinal.⁹⁴⁻¹⁰⁰

Según lo encontrado en este estudio no hubo relación entre los niveles de plaquetas y la aparición de complicaciones en infecciones por dengue. A pesar de que en esta investigación no se encontró dicha relación, la trombocitopenia es un rasgo distintivo del dengue y se ha descrito que su intensidad se correlaciona con el grado de viremia y con la magnitud de la respuesta inmune. Se ha sugerido que, un descenso progresivo de las plaquetas puede condicionar la presencia de manifestaciones hemorrágicas. Sin embargo, la evidencia disponible en la literatura que respalda estas aseveraciones es escasa.⁹⁴⁻⁹⁵

Un estudio realizado en niños no mostró asociación alguna entre el grado de trombocitopenia y la presencia de manifestaciones hemorrágicas. ⁹⁶ No obstante, este último trabajo sí reveló una correlación entre el descenso de las plaquetas y la aparición de choque por dengue.⁹⁶

La mitad de la población mundial vive en zonas endémicas de dengue y la incidencia de mortalidad por dengue a nivel global puede variar de 0,5% a 5%, depende de la región y el país¹⁻²⁹, a pesar de ser una incidencia baja esta puede llegar a incrementarse si esta asociada a choque por dengue.⁹³

La asociación que se hace entre el síndrome de choque por dengue y la trombocitopenia tiene que ver con condiciones de trombocitopenia profunda (aceptada como recuentos de plaquetas menores de 20 mil) ⁹⁸ así como también la cinética del descenso de las plaquetas (mundialmente se acepta el discurso subjetivo “caída drástica del conteo plaquetario”). En este trabajo se documentó que 12 pacientes presentaron plaquetas menores de 20 mil, de los cuales dos se debieron a otros diagnósticos diferentes con dengue (purpura trombocitopenica trombótica y trombocitopenia en estudio), ninguno llegó a presentar ninguna forma severa de dengue.

Un trabajo en Japón demostró que por cada 10 mil plaquetas que se descienda hay 33% de riesgo de desarrollar una forma grave de dengue.⁹⁹, sin embargo en este trabajo no fue posible determinar dicha asociación debido a que no se segregó más la muestra de pacientes según los recuentos plaquetarios, lo que limitó nuestro estudio a solo dos subgrupos, sin embargo queda la posibilidad en un análisis futuro de los datos para poder determinar esta relación.

En relación a los factores de riesgo propuestos en el presente trabajo el que más significancia estadística tuvo fue la hemoconcentración, la cual se presentó en el 18 % de los pacientes con plaquetas mayores de 50 mil, el restante grupo de factores de riesgo propuestos a investigar no tuvo relevancia estadística en este estudio.

Históricamente se ha asociado a la presencia de hemoconcentración con el desarrollo de complicaciones asociadas a dengue, sin embargo en un reciente trabajo en Malasia donde se revisó el perfil de los casos fatales de dengue¹⁰⁰, no hubo relación entre los niveles de hematocrito y el desarrollo de formas fatales de dengue.

Concordando con el trabajo de Malasia este estudio no encontró relación entre el hematocrito y la presencia de complicaciones por dengue, en los casos que se complicaron (2 casos) ninguno presentó hemoconcentración. Por lo tanto, el hematocrito puede que no sea un marcador sensible de pérdida de plasma en el dengue con hemorragia severa, esto por que este puede variar de un paciente a otro así como también puede estar influenciado por otras comorbilidades.

En relación al patrón febril (temperatura mayor a 38°) propuesto como factor de riesgo en este

estudio, no se encontró relación de la fiebre con el desarrollo de complicaciones en pacientes con dengue, solo dos pacientes presentaron fiebre en grupo de pacientes menores de 50 mil plaquetas, ninguno de ellos desarrollo complicación alguna. Opuesto al patrón febril, el trabajo de Lee y colaboradores en Taiwan, mostró que todos los pacientes que presentaron dengue con alguna forma fatal tuvieron la similitud de estar hipotérmicos (temperatura menor de 36°), lo que surge como una señal de advertencia de desarrollar dengue grave.⁹⁴

En este trabajo también se analizó la estancia hospitalaria de los pacientes que fueron ingresados con el diagnóstico de dengue, en donde el promedio de días hospital fue mayor en el grupo de paciente con plaquetas menores de 50 mil, presentando este grupo un promedio de 5,4 días de estancia hospitalaria, a diferencia de los paciente con plaquetas mayores a 50 mil en donde la cantidad de días hospitalizados fue de 3, 3 días.

En un trabajo que investigo las características de un grupo de pacientes con dengue mortal, estancia promedio hospitalaria antes de presentarse una forma severa de la enfermedad fue de 13, 7 días.¹⁰⁰ En promedio, los pacientes en esta revisión fueron ingresados en el quinto día de la enfermedad y la mayoría de ellos en una fase afebril. Esto fue seguido por un rápido deterioro de la condición clínica. Cuatro pacientes fallecieron dentro de las 24 horas de ingreso y los cuatro restantes murieron dentro de los 5 días de ingreso.¹⁰⁰

Cabe resaltar que en cuanto a los días de hospitalización, el incremento de estos ha tenido un comportamiento similar a nivel global, representando un alto costo económico, lo que sugiere que la utilización de escalas de estratificación para el ingreso y manejo de pacientes con dengue podría ser una herramienta, que pueda definir con precisión la necesidad real de ingreso para pacientes con dengue.¹⁰¹⁻¹⁰²

En nuestro caso se utilizo únicamente el recuento plaquetario menor de 100 mil para ingresar a los pacientes con diagnostico de dengue, independientemente de la condición clínica del paciente y la presencia o no de signos de alarma, lo que realmente genero en nuestro estudio un incremento considerable de la estancia hospitalaria en nuestro centro de salud, al igual que a nivel mundial tenemos la tarea de optimizar una escala de estratificación basada en la clasificación revisada de dengue y que pueda ser aplicada a nuestra realidad.

CAPITULO 5: CONCLUSION DEL ESTUDIO

5.1. LIMITACIONES.

- Al ser un estudio unicéntrico, limitado al Hospital de Heredia, la cantidad de pacientes enrolados en el mismo fue solamente de 200, lo que limita la validez de los resultados a manera local.
- La recolección de datos se circunscribe a fechas determinadas, dejando por fuera los pacientes de otros periodos fuera de lo establecido en la investigación.
- Hubo dificultades a la hora de recolección de datos por el nivel organizacional del Servicio de Registros Médicos del Hospital de Heredia.
- Se analizo únicamente el hematocrito como variable hematológica, lo que dejo de lado otras pruebas de laboratorio que podrían ser estudiadas en nuestra población y que se han relacionado al desarrollo de complicaciones asociadas a dengue.

5.2. RECOMENDACIONES.

- Promover el uso de escalas de estratificación de severidad basadas en signos de alerta y no en un nivel arbitrario de un solo factor como lo es el recuento plaquetario (menor de 100 mil) para optimizar el manejo de pacientes con infecciones con dengue y que vayan a desarrollar alguna de sus formas graves.
- Modificar la guía de manejo institucional de pacientes con diagnostico de dengue para así lograr optimizar recursos en el abordaje de esta enfermedad.

5.3. CONCLUSIONES.

- No se encontró relación entre el nivel de trombocitopenia y el desarrollo de complicaciones por dengue en pacientes que se presentaron con este diagnóstico al Hospital de Heredia, en el periodo establecido en esta investigación.

- La incidencia de complicaciones asociadas a trombocitopenia en pacientes con dengue fue realmente baja; comparando los grupos a estudiar se presentaron en el 3% de los pacientes con plaquetas menores de 50 mil y 2% de los pacientes con plaquetas mayores de 50 mil.
- El tipo de complicación presentada en ambos grupos correspondió a sangrados espontáneos menores, los cuales fueron auto limitados y correspondieron a gingivorragias.
- Dentro de los factores de riesgo postulados, se observó que el de mayor prevalencia fue la hemoconcentración, la cual se presentó en el grupo de paciente con plaquetas mayores de 50 mil, sin embargo, en este trabajo no se documentó su asociación con el desarrollo de complicaciones por dengue.
- Este estudio debería de realizarse en las provincias con mayor prevalencia de la enfermedad y de hospitalización con el fin de determinar si lo encontrado en el Hospital HSVP es lo mismo que en otros lugares a nivel nacional y de esa forma tener evidencia científica para modificar las guías actuales de manejo del dengue a nivel de la CCSS. Con la ventaja que tal vez se podría ahorrar dinero al variar el nivel de plaquetas como criterio para hospitalización.

REFERENCIAS

1. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. World Health Organization. 2009.
2. Nimmannitya S. Dengue haemorrhagic fever: current issues and future research. *Asian-Oceanian Journal of Paediatrics and Child Health* 2002;1:1–21.
3. Guía para la Organización de la Atención y Manejo de los Pacientes con Dengue y Dengue Hemorrágico, CCSS, julio 2009.
4. Rigau-Pérez. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *THE LANCET* • Vol 3 52 September 19, 1998.
5. Gibbons, Dengue: an escalating problema, *BMJ VOLUME* 324 29 JUNE 2002.
6. Buonsenso et al, The re-emergence of dengue virus in non-endemic countries: a case series. *BMC Research Notes* 2014, 7:596
7. PAHO. Programa Regional de Dengue Situación de Dengue en Centro América y república Dominicana Pan American Health Organization, 15 de julio de 2013
8. Ministerio de Salud, Costa Rica. Vigilancia de la Salud. San José, Costa Rica. Disponible en: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/>. Acceso el 9 de febrero de 2011.
9. Bonilla R. Distribución espacio temporal de la fiebre dengue en Costa Rica. *Población y Salud en Mesoamérica*. 2006;3(2):2.
10. Mena et al, Factores asociados con la incidencia de dengue en Costa Rica, *Rev Panam Salud Publica* 29(4), 2011.
11. Wilder-Smith, Dengue in Travelers, *N Engl J Med* 2005;353:924-32.
12. Malavige, *Dengue viral infections* ,*Postgrad. Med. J.* 2004;80:588-601 doi:10.1136/pgmj.2004.01963

13. Cardier JE et al. Proinflammatory factors present in sera from patients with acute dengue infection induce activation and apoptosis of human microvascular endothelial cells: possible role of TNF-alpha in endothelial cell damage in dengue. *Cytokine*, 2005, 30(6):359--365.
14. M.G. Guzman, G. Kouri, Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges, *Journal of Clinical Virology* 27 (2003) 1-13.
15. Kurane, Dengue fever and dengue haemorrhagic fever: challenges of controlling an enemy still at large, *Rev. Med. Virol.* 2001; 11: 301-311.
16. Anne Tuiskunen Back, PhD, Dengue viruses an overview, *Infection Ecology and Epidemiology* 2013, 3: 19839 - <http://dx.doi.org/10.3402/iee.v3i0.19839>.
17. Dung NM, Day NP, Tam DT, et al. Fluid replacement in dengue shock syndrome: a randomized, double-blind comparison of four intravenous-fluid regimens. *Clin Infect Dis* 1999;29:787-94.
18. Russell PK, Nisalak A, Sukhavachana P, Vivona S. A plaque reduction test for dengue virus neutralizing antibodies. *J Immunol* 1967;99:285-90.
19. Wills, Comparison of Three Fluid Solutions for Resuscitation in Dengue Shock Syndrome, *N Engl J Med* 2005;353:877-89.
20. Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Can doctors make an accurate diagnosis of dengue infections at an early stage? *Dengue Bulletin* 1999;23:1-9.
21. Swasdivorn S, Vibulvatanakit S, Sasavatpakde RN, et al. Efficacy of clinical diagnosis of dengue fever in pediatric age groups as determined by the WHO case definition 1997 in Thailand. *Dengue Bulletin* 2001;25:56-64.
22. Vaughn DW, Green S. Dengue and dengue hemorrhagic fever. In: Strickland GT, ed. *Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases*: Philadelphia: Saunders, 2000:240-1.
23. Bandyopadhyay S, Lum LC, Kroeger A. Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever. *Trop Med Int Health*. 2006;11(8):1238-

55.

24. Alexander N, Balmaseda A, Castelobranco I, Dimaano E, Hien TT, Hung NT, et al. Evidence for a revised dengue case classification: a multicentre prospective study across Southeast Asia and Latin America. *Trop Med Int Health*. 2011;16(8):936–48.

25. Guzman MG, Alvarez M, Halstead SB: Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: an historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch Virol* 2013, 158:1445–1459.

26. Machado CR, Machado ES, Rohloff RD, Azevedo M, Campos DP, de Oliveira RB, Brasil P: Is pregnancy associated with severe dengue? A review of data from the Rio de Janeiro surveillance information system. *PLoS Negl Trop Dis* 2013, 7:e2217.

27. Lee VJ, Lye DC, Sun Y, Leo YS: Decision tree algorithm in deciding hospitalization for adult patients with dengue haemorrhagic fever in Singapore. *Trop Med Int Health* 2009, 14:1154–1159.

28. Huy NT, Van Giang T, Thuy DH, Kikuchi M, Hien TT, Zamora J, Hirayama K: Factors associated with dengue shock syndrome: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2013, 7:e2412.

29. Yacoub and Wills, Predicting outcome from dengue, *BMC Medicine* 2014, 12:147.

30. Cao XT, Ngo TN, Wills B, Kneen R, Nguyen TT, Ta TT, Tran TT, Doan TK, Solomon T, Simpson JA, White NJ, Farrar JJ: Evaluation of the World Health Organization standard tourniquet test and a modified tourniquet test in the diagnosis of dengue infection in Viet Nam. *Trop Med Int Health* 2002, 7:125–132.

31. Wali JP, Biswas A, Aggarwal P, Wig N, Handa R: Validity of tourniquet test in dengue haemorrhagic fever. *J Assoc Physicians India* 1999, 47:203–204.

32. Phuong CX, Nhan NT, Kneen R, Thuy PT, van Thien C, Nga NT, Thuy TT, Solomon T, Stepniewska K, Wills B: Clinical diagnosis and assessment of severity of confirmed dengue infections in Vietnamese children: is the World Health Organization classification system helpful? *Am J Trop Med Hyg* 2004, 70:172–179.

33. Levick JR, Michel CC. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res* 2010;87:198-210.
34. Michel CC, Curry FE. Microvascular permeability. *Physiol Rev* 1999;79:703-61.
35. Cameron P. Simmons, Ph.D., Jeremy J. Farrar, M.D., Ph.D., Nguyen van Vinh Chau, M.D., Ph.D., and Bridget Wills, M.D., D.M, **Current Concepts** Dengue, *N Engl J Med* 2012;366:1423-32.
36. Wills BA, Oragui EE, Dung NM, et al. Size and charge characteristics of the protein leak in dengue shock syndrome. *J Infect Dis* 2004;190:810-8
37. Jeewandara C, Gomes L, Wickramasinghe N, Gutowska-Owsiak D, Waithe D, Paranavitane SA, et al. (2015) Platelet Activating Factor Contributes to Vascular Leak in Acute Dengue Infection. *PLoS Negl Trop Dis* 9(2): e0003459. doi:10.1371/journal.pntd.0003459.
38. Borawake K, Prayag P, Wagh A, Dole S. Dengue encephalitis (2011) *Indian J Crit Care Med* 15: 190-193.
39. Misra UK, Kalita J, Syam UK, Dhole TN (2006) Neurological manifestations of dengue virus infection. *J Neurol Sci* 244: 117-122.
40. Rupali Malik, Dengue encephalopathy – still an enigma?, *J Infect Dev Ctries* 2014; 8(8):1076-1078. doi:10.3855/jidc.4762
41. Solomon T, Dung NM, Vaughn DW, Kneen R, Thao LT, Raengsakulrach B, Loan HT, Day NP, Farrar J, Myint KS, Warrell MJ, James WS, Nisalak A, White NJ (2000) Neurological manifestations of dengue infection. *Lancet* 355: 1053-1059.
42. Matsumoria A, Sasayama S. Immunomodulating agents for the management of heart failure with myocarditis and cardiomyopathy—lesson from animal experiments. *Eur Heart J* 1995;16:140-3
43. J.P. Wali, Cardiac involvement in Dengue Haemorrhagic Fever, *International Journal of Cardiology* 64 (1998) 31-36

44. Elupessy JM, Jota S, Allo ER. Pericardial effusion in Dengue Haemorrhagic Fever. *Paediatr Indones* 1989;29:72-5.
45. Fariz- Safhan, M.N, Bleeding outcome during a dengue outbreak in 2005 in the East-coast region of Peninsular Malaysia: a prospective study, *Tropical Biomedicine* 31(2): 270-280 (2014).
46. Halstead SB. Neutralization and antibody- dependent enhancement of dengue viruses. *Adv. Virus Res.* 60, 421-467 (2003).
47. Kin Fai Tang, Diagnosis of dengue: an update, *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 10(8), 895-907 (2012)
48. Potts JA, Rothman AL. Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations. *Trop. Med. Int. Health* 13(11), 1328-1340 (2008)
49. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj *Set al.* Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *J. Infect. Dis.* 181(1), 2-9 (2000)
50. Jarman RG, Nisalak A, Anderson KB *et al.* Factors influencing dengue virus isolation by C6/36 cell culture and mosquito inoculation of nested PCR-positive clinical samples. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 84(2), 218-223 (2011).
51. Meiklejohn G, England B, Lennette EH. Propagation of dengue virus strains in unweaned mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1(1), 51-58 (1952).
52. Jarman RG, Nisalak A, Anderson KB *et al.* Factors influencing dengue virus isolation by C6/36 cell culture and mosquito inoculation of nested PCR-positive clinical samples. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 84(2), 218-223 (2011)
53. Kuberski TT, Rosen L. A simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26(3), 533-537 (1977).
54. Chua KB, Mustafa B, Abdul Wahab AH *et al.* A comparative evaluation of dengue diagnostic tests based on single-acute serum samples for laboratory confirmation of acute dengue. *Malays. J. Pathol.* 33(1), 13-20 (2011).

55. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase- polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 30(3), 545–551 (1992).
56. Chien LJ, Liao TL, Shu PY, Huang JH, Gubler DJ, Chang GJ. Development of real-time reverse transcriptase PCR assays to detect and serotype dengue viruses. *J. Clin. Microbiol.* 44(4), 1295–1304 (2006).
57. Bhatnagar J, Blau DM, Shieh WJ *et al.* Molecular detection and typing of dengue viruses from archived tissues of fatal cases by rt-PCR and sequencing: diagnostic and epidemiologic implications. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 86(2), 335–340 (2012).
58. Poloni TR, Oliveira AS, Alfonso HL *et al.* Detection of dengue virus in saliva and urine by real-time RT-PCR. *Viol. J.* 7,22 (2010).
59. Xu H, Di B, Pan YX *et al.* Serotype 1-specific monoclonal antibody-based antigen capture immunoassay for detection of circulating nonstructural protein NS1: implications for early diagnosis and serotyping of dengue virus infections. *J. Clin. Microbiol.* 44(8), 2872–2878 (2006).
60. Peeling RW, Artsob H, Pelegrino JL *et al.* Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nat. Rev. Microbiol.* 8(12 Suppl.), S30–S38 (2010).
61. Kumarasamy V, Chua SK, Hassan Z *et al.* Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. *Singapore Med. J.* 48(7), 669–673 (2007).
62. Lima MDA R, Nogueira RM, Schatzmayr HG, de Pilippis AM. A new approach to dengue fatal cases diagnosis: NS1 antigen capture in tissues. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 5(5), e1147 (2011).
63. De Paula SO, Fonseca BA. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Braz. J. Infect. Dis.* 8(6), 390–398 (2004)
64. Blacksell SD, Jarman RG, Bailey MS *et al.* Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: the need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody

detection to achieve acceptable levels of accuracy. *Clin. Vaccine Immunol.* 18(12), 2095–2101 (2011).

65. Groen J, Koraka P, Velzing J, Copra C, Osterhaus AD. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue virus-specific immunoglobulin M and G antibodies. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 7(6), 867–871 (2000)

66. Prince HE, Matud JL. Estimation of dengue virus IgM persistence using regression analysis. *Clin. Vaccine Immunol.* 18(12), 2183–2185 (2011).

67. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P *et al.* Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Emerging Infect. Dis.* 15(3), 436–440 (2009).

68. Wang SM, Sekaran SD. Evaluation of a commercial SD dengue virus NS1 antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay kit for early diagnosis of dengue virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 48(8), 2793–2797 (2010).

69. Dulbecco R, Vogt M, Strickland AG. A study of the basic aspects of neutralization of two animal viruses, western equine encephalitis virus and poliomyelitis virus. *Virology* 2(2), 162–205 (1956).

70. Russell PK, Nisalak A, Sukhavachana P, Vivona S. A plaque reduction test for dengue virus neutralizing antibodies. *J. Immunol.* 99(2), 285–290 (1967).

71. Putnak JR, de la Barrera R, Burgess T *et al.* Comparative evaluation of three assays for measurement of dengue virus neutralizing antibodies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79(1), 115–122 (2008).

72. Martin NC, Pardo J, Simmons M *et al.* An immunocytometric assay based on dengue infection via DC-SIGN permits rapid measurement of anti-dengue neutralizing antibodies. *J. Virol. Methods* 134(1–2), 74–85 (2006).

73. Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, Vaughn DW, Nisalak A, Ennis FA, Rothman AL: High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2002, 186:1165–1168

74. Lin CF, Lei HY, Shiau AL, Liu HS, Yeh TM, Chen SH, Liu CC, Chiu SC, Lin YS: Endothelial cell apoptosis induced by antibodies against dengue virus nonstructural protein 1 via production of nitric oxide. *J Immunol* 2002, 169:657–664.
75. Butthep P, Chunchakan S, Yoksan S, Tangnararatchakit K, Chuansumrit A: Alteration of cytokines and chemokines during febrile episodes associated with endothelial cell damage and plasma leakage in dengue hemorrhagic fever. *Pediatr Infect Dis J* 2012, 31:e232–e238
76. Cardier JE, Rivas B, Romano E, Rothman AL, Perez-Perez C, Ochoa M, Caceres AM, Cardier M, Guevara N, Giovannetti R: Evidence of vascular damage in dengue disease: demonstration of high levels of soluble cell adhesion molecules and circulating endothelial cells. *Endothelium* 2006, 13:335–340.
77. Michels M, van der Ven AJ, Djamiatun K, Fijnheer R, de Groot PG, Griffioen AW, Sebastian S, Faradz SM, de Mast Q: Imbalance of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in severe dengue and relationship with thrombocytopenia, endothelial activation, and vascular stability. *Am J Trop Med Hyg* 2012, 87:943–946.
78. Butthep P, Chunchakan S, Tangnararatchakit K, Yoksan S, Pattanapanyasat K, Chuansumrit A: Elevated soluble thrombomodulin in the febrile stage related to patients at risk for dengue shock syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 2006, 25:894–897.
79. Tam DT, Ngoc TV, Tien NT, Kieu NT, Thuy TT, Thanh LT, Tam CT, Truong NT, Dung NT, Qui PT, Hien TT, Farrar JJ, Simmons CP, Wolbers M, Wills BA: Effects of short-course oral corticosteroid therapy in early dengue infection in Vietnamese patients: a randomized, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2012, 55:1216–1224.
80. Hottz ED, Lopes JF, Freitas C, Valls-de-Souza R, Oliveira MF, Bozza MT, Da Poian AT, Weyrich AS, Zimmerman GA, Bozza FA, Bozza PT: Platelets mediate increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation. *Blood* 2013, 122:3405–3414.
81. WHO. *Global strategic framework for integrated vector management*. Geneva, World Health Organization, 2004 (Document WHO/CDS/CPE/2004.10, disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_PVC_2004_10.pdf; accedido en octubre 2008).
82. WHO/TDR. *Report of the Scientific Working Group on Dengue (TDR/SWG/08)*. Geneva, World

Health Organization, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2006 (disponible en: http://www.who.int/tdr/publications/publications/swg_dengue_2.htm; accedido en octubre 2008).

83. Kroeger A et al. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomized trials. *British Medical Journal*, 2006, 332:1247–1252.

84. Perich M et al. Field evaluation of a lethal ovitrap against dengue vectors in Brazil. *Medical and Veterinary Entomology*, 2003, 17:205–210.

85. Lloyd LS. *Best practices for dengue prevention and control in the Americas*. Washington, DC, Environmental Health Project, 2003 (Strategic Report No. 7).

86. WHO/EMRO. *Use of fish for mosquito control*. Cairo, World Health Organization Regional Office for the Eastern Mediterranean, 2003 (Document WHO/EM/MAL/289/E/G).

87. Wise de Valdez MR, Nimmo D, Betz J, et al. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:4772-5.

88. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, et al. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. *Cell* 2009;139:1268-78.

89. Walker T, Johnson PH, Moreira LA, et al. The wMel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature* 2011;476:450-3.

90. Konishi E, Kosugi S, Imoto J. Dengue tetravalent DNA vaccine inducing neutralizing antibody and anamnestic responses to four serotypes in mice. *Vaccine* 2006; 24: 2200–7.

91. Sabchareon A, Lang J, Chanthavanich P, Yoksan S, Forrat R, Attanath P, et al. Safety and immunogenicity of tetravalent live-attenuated dengue vaccines in Thai adult volunteers: role of serotype concentration, ratio, and multiple doses. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66: 26472.

92. Durbin AP, Whitehead SS. Next-generation dengue vaccines: novel strategies currently under development. *Viruses* 2011; 3: 180014.

93. Guy B, Saville M, Lang J. Development of Sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine. *Hum Vaccin* 2010;6:9.
94. Bridget A. Wills, Coagulation Abnormalities in Dengue Hemorrhagic Fever: Serial Investigations in 167 Vietnamese Children with Dengue Shock Syndrome, *Clinical Infectious Diseases* 2002;35:277–85
95. Lee I-K, Liu J-W, Yang KD (2012) Fatal Dengue Hemorrhagic Fever in Adults: Emphasizing the Evolutionary Pre-fatal Clinical and Laboratory Manifestations. *PLoS Negl Trop Dis* 6(2): e1532. doi:10.1371/journal.pntd.0001532
96. Díaz-Quijano, Complicaciones asociadas a la trombocitopenia profunda en pacientes con dengue, *Rev Méd Chile* 2006; 134: 167-173
97. Monroy V, Ruiz BH. Participation of dengue virus in the fibrinolytic process. *Virus Genes* 2000; 21:197–208.
98. KRISHNAMURTI C, KALAYANAROOJ S, CUTTING MA, PEAT RA, ROTHWELL SW, REID TJ ET AL. Mechanisms of hemorrhage in dengue without circulatory collapse. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 840-7.
99. SD Jayaratne, Evaluation of the WHO revised criteria for classification of clinical disease severity in acute adult dengue infection, *BMC Research Notes* 2012 5:645.
100. Huy NT, Van Giang T, Thuy DHD, Kikuchi M, Hien TT, et al. (2013) Factors Associated with Dengue Shock Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 7(9): e2412. doi:10.1371/journal.pntd.0002412.
101. Sam S-S, Omar SFS, Teoh B-T, Abd-Jamil J, AbuBakar S (2013) Review of Dengue Hemorrhagic Fever Fatal Cases Seen Among Adults: A Retrospective Study. *PLoS Negl Trop Dis* 7(5): e2194.
102. Barniol et al.: Usefulness and applicability of the revised dengue case classification by disease: multi-centre study in 18 countries. *BMC Infectious Diseases* 2011 11:106.

