

**CARACTERIZACIÓN DE DENGUE EN MENORES DE 14 AÑOS EN  
EL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA EN COLOMBIA**

**JUAN PABLO ROJAS HERNÁNDEZ**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE  
FACULTAD DE MEDICINA  
INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA  
BOGOTÁ D.C. 2016**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE  
DIVISIÓN DE POSTGRADOS Y FORMACIÓN AVANZADA  
POSTGRADO DE INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**CARACTERIZACIÓN DE DENGUE EN MENORES DE 14 AÑOS EN  
EL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA EN COLOMBIA,  
ENTRE EL 1 MARZO AL 31 DICIEMBRE DE 2014**

**LINEA DE INVESTIGACION:**

**GRUPO DE INVESTIGACIÓN PEDIÁTRICA UNIVERSIDAD EL  
BOSQUE**

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:**

**JUAN PABLO ROJAS HERNÁNDEZ**

**ASESOR TEMÁTICO:**

**MARTHA ISABEL ÁLVAREZ, MD, MPH**

**ASESORES METODOLÓGICOS:**

**JAIME CASTELLANOS, OD, PhD**

**MYRIAM L. VELANDIA, PhD**

**CAROLINA CORONEL, MsC**





*“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.*

# TABLA DE CONTENIDO

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.4</b>
<b>3</b>	<b>PROBLEMA</b> .....	<b>355</b>
3.1	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	37
<b>4</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>
5.1	OBJETIVO GENERAL.....	398
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
<b>6</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>39</b>
6.1	TIPO Y DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO.....	39
6.2	POBLACIÓN DE REFERENCIA Y MUESTRA.....	39
6.3	CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	40
6.4	DESCRIPCIÓN DE VARIABLES DEL ESTUDIO .....	40
6.5	TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	41
6.6	TIPOS DE PROCESAMIENTO REALIZADOS A LAS MUESTRAS.....	46
<b>7</b>	<b>PLAN DE ANÁLISIS</b> .....	<b>50</b>
<b>8</b>	<b>ASPECTOS ÉTICOS</b> .....	<b>50</b>
<b>9</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>521</b>
<b>10</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>587</b>
<b>11</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>65</b>
<b>12</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>66</b>
<b>13</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>74</b>

## LISTADO DE TABLAS

<i>TABLA 1. DEFINICIÓN OPERATIVA DE CASOS</i> .....	43
<i>TABLA 2. CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS Y MANIFESTACIONES CLINICAS</i> .....	51
<i>TABLA 3. CARACTERISTICAS DE LABORATORIO DE PACIENTES CON DENGUE Y SINDROME FEBRIL AGUDO</i> .....	33
<i>TABLA 4. CARACTERISTICAS DE LABORATORIO DE PACIENTES CONFIRMADOS CON DENGUE SEGÚN DÍA DE LA ENFERMEDAD</i> .....	33
<i>TABLA 5. EVALUACIÓN DE ESCALAS DE APROXIMACIÓN DIAGNOSTICA</i> .....	57

## LISTADO DE FIGURAS

<i>GRÁFICO 1. CLASIFICACION DE CASOS DE DENGUE Y NIVELES DE GRAVEDAD</i> .....	23
<i>GRÁFICO 2. ALGORTIMO DE CAPTACION DE PACIENTES</i> .....	42
<i>GRÁFICO 3. RELACION DE UNIDADES PANBIO EN LA ELISA DE NSI CON LEUCOCITOS Y PLAQUETAS</i> .....	58

## **RESUMEN**

### **Objetivo**

En Colombia, la distribución del *Aedes aegypti* es generalizada y la enfermedad causada por el virus del dengue es endémica en casi todo el país. Aproximadamente 23 millones de personas están en riesgo de adquirir la enfermedad del dengue. El objetivo del presente estudio fue caracterizar las manifestaciones clínicas, métodos diagnósticos y el uso de dos escalas de aproximación diagnóstica de dengue, en una población infantil del municipio de Girardot del departamento de Cundinamarca en Colombia, entre el 1 marzo al 31 diciembre de 2014.

### **Pacientes y métodos**

El presente estudio de investigación se enmarcó dentro de los procedimientos de investigación denominados estudio observacional descriptivo prospectivo, tipo serie de casos, realizado entre 1 marzo al 31 diciembre de 2014, con pacientes en edad pediátrica comprendida entre 28 días de edad hasta los 14 años. Los niños fueron atendidos por el servicio de Urgencias del Hospital Universitario de La Samaritana - Unidad Funcional Girardot, en el municipio de Girardot, Cundinamarca en Colombia. El motivo de consulta al servicio de urgencias fue la presencia de Síndrome Febril Agudo (SFA) menor a 7 días. A cada uno de los niños se les realizó las pruebas de diagnóstico rápido de dengue (PDR) para la detección de Inmunoglobulina (IgM) e inmunoglobulina G (IgG) y la proteína no estructural 1 (NS1), pruebas serológicas para la detección de NS1 y IgM e IgG por ELISA y la detección del RNA de DENV para su posterior serotipificación.

En nuestro estudio, sumado a los hallazgos clínicos y ayudas diagnósticas específicas para dengue, también se evaluaron dos escalas de diagnóstico en la población pediátrica, uno propuesto por *Díaz-Quijano et al (2006)* y el otro por *Tuan et al (2014)*. Estas escalas tienen diferentes variables como edad, variables del hemograma como leucocitos y plaquetas, y variables clínicas como exantema, artralgias, etc. Los usos de ambas escalas permiten identificar casos de dengue y los no Casos de dengue (OEF).

## **Resultados**

Del total de 289 niños con SFA que aceptaron participar en el estudio, 253 fueron casos confirmados de dengue (87,5%). El 41,5% (n=105) se encontró entre los 5-9 años de edad. No se encontraron diferencias significativas en el nivel de leucocitos ( $p < 0,03$ ), entre los grupos de pacientes con dengue, dengue Sin Signos de Alarma (DSSA), dengue con Signos de Alarma (DSA) y dengue grave (DG). Los niveles de leucocitos fueron mayores en el grupo de pacientes denominados no casos de dengue (OEF). En el recuento de nivel de las plaquetas se encontró diferencia entre los grupos de DG y DSA, en comparación con DSSA ( $p < 0,001$ ). No se encontraron diferencias entre el valor de las unidades Panbio de la prueba de ELISA NS1 y los grupos de severidad ( $p > 0,05$ ).

De igual forma, se detectó RNA viral en 138 de 287 muestras (48,1%) por RT-PCR. El serotipo DENV-2 fue el más frecuente (68,2%) seguido de DENV-1 (13%), mientras que DENV-3 y DENV-4 fueron identificados en 5,8% y 4,4% de las muestras, respectivamente. Se detectaron infecciones producidas por dos serotipos de DENV en 25 pacientes (18.1%).

El resultado de la evaluación de escalas de diagnóstico fue estadísticamente significativo ( $p = <0,001$ ) en favor del uso de este tipo de herramientas diagnósticas.

### **Discusión y Conclusiones.**

Definir o precisar el diagnóstico clínico del dengue en los primeros días de enfermedad es complejo debido a que las manifestaciones clínicas se presentan como un SFA con síntomas inespecíficos y su diagnóstico diferencial comprende una amplia variedad de patologías.

Por un periodo de 9 meses se hizo un seguimiento de los signos y síntomas asociados a dengue de la población infantil escogida para dar cumplimiento a los objetivos propuestos. Se observó que las manifestaciones severas del dengue se relacionaron con una disminución significativa del recuento de leucocitos y plaquetas; sin embargo, no se encontró relación entre las unidades Panbio en la prueba de ELISA para detectar NS1 con la severidad clínica del dengue. Adicionalmente se observó que, en los casos confirmados por clínica y laboratorio, los niños presentaron infecciones principalmente con el serotipo DENV-2, seguido por DENV-1. Finalmente, al utilizar en el diagnóstico las escalas de *Tuan et al*, y *Díaz-Quijano et al*, se observó que estas fueron herramientas útiles para el diagnóstico clínico de dengue en Pediatría.

## 1 INTRODUCCIÓN

El presente estudio nos permitió determinar las características clínicas, la utilidad de los métodos diagnósticos y uso de dos escalas de aproximación diagnóstica de la enfermedad conocida como dengue. La población objeto, estuvo conformada por un grupo poblacional de 289 niños habitantes del municipio de Girardot, departamento de Cundinamarca en Colombia. El estudio en cuestión se realizó entre el 1 marzo al 31 diciembre de 2014.

La proliferación del mosquito *Aedes aegypti* en el territorio colombiano en las últimas décadas ha aumentado considerablemente la incidencia de dengue. Más de la mitad de la población colombiana corre riesgo de contraer esta enfermedad, debido a que en el 80% de los municipios colombianos circula el mosquito (1). De esta forma, la detección oportuna y el acceso a la asistencia médica adecuada, pueden ayudar a disminuir las tasas de mortalidad especialmente en la población infantil.

El dengue, es una enfermedad que puede ser causada por cualquiera de los cuatro serotipos del virus (DENV-1 a DENV-4), todos circulantes en el nuestro país, siendo el DENV-2 (44%) y el DENV-1 (41%) los más frecuentes (2).

En el año 2010, la incidencia del dengue en Colombia fue de 151.774 casos, de los cuales 5.420 fueron clasificados como graves, según las definiciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) actuales (2).

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad van desde procesos asintomáticos hasta cuadros severos en los cuales se definen diversas formas clínicas: dengue Sin Signos de Alarma (DSSA), dengue con Signos de Alarma (DSA), y el dengue Grave (DG), en donde se encuentran incluidos el síndrome de choque por dengue (SCD) y otras complicaciones del dengue como miocarditis, encefalitis, hepatitis, las cuales se asocian con mayor mortalidad (3).

Las características clínicas del dengue en pediatría dependen con frecuencia de la edad del paciente; así, lactantes y preescolares pueden sufrir un cuadro febril indiferenciado, con erupción maculo/papulosa mientras que en los adolescentes la duración de la fiebre y el conjunto sintomático son de mayor intensidad, siendo muy difícil diferenciar clínicamente el dengue de otras enfermedades febriles de la niñez y, por lo tanto, las conclusiones clínicas no deben ser disociadas de la epidemiología de cada región y en especial de la población pediátrica en Colombia (4).

Debido a la ausencia de tratamiento o vacuna eficaz, es necesario un adecuado diagnóstico para detectar y tratar la enfermedad adecuadamente. En Colombia no existe una descripción sistemática de la presentación clínica del dengue en la población pediátrica y además es muy baja la proporción de casos confirmados por herramientas de laboratorio. Por esta razón, se hace necesario hacer una caracterización completa de las manifestaciones clínicas de dengue en niños colombianos y, además, para permitir comparar las variables hematológicas y biomarcadores en relación a diferentes grupos de clasificación clínica.

Los resultados del presente estudio nos permiten señalar que del total de 289 niños con SFA, 253 (87.5%) de ellos fueron confirmados como casos de dengue. El 41.5% (n=105), de los pacientes están entre los 5-9 años de edad. No se encontraron diferencias significativas en el nivel de leucocitos ( $p < 0,03$ ), entre los grupos de pacientes con dengue, dengue Sin Signos de Alarma (DSSA), dengue con Signos de Alarma (DSA) y dengue grave (DG). Los niveles de leucocitos fueron mayores en el grupo de pacientes denominados no casos de dengue (Otras enfermedades febriles OFE). En el recuento de nivel de las plaquetas se encontró diferencia entre los grupos de DG y DSA, en comparación con DSSA ( $p < 0,001$ ). Los valores de las unidades Panbio de la prueba de ELISA NS1 no fueron diferentes entre los grupos de severidad ( $p > 0,05$ ). Como parte del diagnóstico se detectó por RT-PCR el RNA viral en 138 de 287 muestras (48.1%). El serotipo DENV-2 fue el más frecuente (68,2%) seguido de DENV-1 (13%), mientras que DENV-3 y DENV-4 fueron identificados en 5,8% y 4,4% de las muestras, respectivamente. En 25 pacientes se detectaron dos serotipos DENV simultáneamente.

Con el propósito de fortalecer el diagnóstico clínico, se evaluaron dos escalas de diagnóstico, una propuesta por *Díaz-Quijano et al (2006)* y la otro por *Tuan et al (2014)*. Estas escalas usan diferentes variables como leucocitos y plaquetas, edad, presencia de exantema, artralgias, etc., para predecir la confirmación de la enfermedad del dengue.

El uso de ambas escalas permitió correlacionar positivamente los casos y los no casos de dengue. El resultado de la evaluación fue estadísticamente significativo ( $p = < 0,001$ ) a favor del uso de este tipo de herramientas diagnósticas.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Generalidades

El termino español “dengue” sinónimo de afección, melindre ó remilgo, proviene del vocablo *Swahili ka dinga pepo*, que significa espasmo muscular producido por los malos espíritus. En 1839 se acogió la palabra “dengue” para referir la enfermedad que hoy conocemos y en 1906 se evidenció que ésta era producida por un arbovirus (arthropod borne virus) y transmitida por la picadura del mosquito *Aedes* (5).

El dengue es una enfermedad viral febril aguda causada por uno o más virus del dengue. Se reconoce un espectro de manifestaciones de la enfermedad que van desde procesos asintomáticos hasta cuadros severos; es así como se definen diversas formas clínicas: dengue Sin Signos de Alarma (DSSA), dengue con Signos de Alarma (DSA), y el dengue Grave (DG) donde se encuentran incluidos el síndrome de choque dengue (SCD) y otras complicaciones del dengue como miocarditis, encefalitis, hepatitis las cuales se asocian con mayor mortalidad (3).

El virus del dengue es un flavivirus que forma parte de la familia *Flaviviridae*, que también agrupa a los pestivirus y hepacivirus (6). Los flavivirus son 68 virus, mayoritariamente transmitidos por artrópodos (arbovirus), siendo un gran número de ellos patógenos al hombre, por lo que son los causantes de problemas de salud pública. En Colombia, la distribución del *Ae. aegypti* principal vector del virus, es generalizada y la enfermedad del dengue es endémica en los municipios por debajo de 1800 msnm (7).

La diversidad de las patologías causadas por flavivirus (fiebre hemorrágica, formas con choque, encefalitis, formas pseudogripales), se caracterizan por su carácter masivo en las epidemias. Aproximadamente 23 millones de personas en Colombia están en riesgo de contraer la enfermedad del dengue (7); sin embargo, informes recientes, sugieren que tanto el virus como su vector se detectan en altitudes superiores a los 1.800 metros sobre el nivel del mar, lo que sugiere que más personas están pueden estar en riesgo (8).

La mortalidad por dengue es evitable en el 98% de los casos estando estrechamente relacionada con la calidad en la atención de paciente. La identificación precoz de los casos busca principalmente evitar la mortalidad (9). El diagnóstico clínico de dengue en los primeros días de enfermedad es difícil (10), dado que se presenta como un SFA con síntomas inespecíficos; además, su diagnóstico diferencial comprende una amplia variedad de entidades, entre las que se encuentran enfermedades como la influenza, la rubéola, la gastroenteritis, la fiebre tifoidea, la fiebre amarilla, el paludismo y la leptospirosis (11) (12).

Todo lo anterior genera una alta discordancia entre el diagnóstico clínico y de laboratorio, lo que refuerza la importancia de confirmar la infección por dengue con pruebas de laboratorio (8).

## **2.2 Virus y Ciclo viral**

El DENV es de morfología icosaédrica de 50 nm aproximadamente, conformado por una membrana lipídica (obtenida de las células del hospedero), sobre la cual se insertan las proteínas de membrana y de envoltura. El interior del virus contiene el complejo riboproteico conformado por la proteína de la cápside y el genoma viral. Este último consiste en una única hebra de RNA de sentido positivo que codifica para un polipéptido único y que contiene tanto las proteínas estructurales que harán parte de la partícula viral, como las proteínas no estructurales, que intervienen durante los procesos de ensamblaje y replicación del RNA genómico, entre otras (13).

### **Proteínas estructurales.**

La proteína C, presente en cápside, también conocida como proteína core o de cubierta, pesa 11 kDa aproximadamente. Su estructura secundaria consiste en cuatro hélices alfa que cumplen diferentes funciones: las hélices 3 y 4 son hidrofóbicas y anclan la proteína a la membrana del retículo endoplásmico (13). La proteína precursora de membrana (prM) tiene un peso molecular de 26 kDa y está presente en los viriones inmaduros y junto con la proteína M, participa fundamentalmente en el proceso de maduración de la partícula viral. La proteína E es la única proteína viral que interactúa con las moléculas receptoras de la membrana plasmática de las células vulnerables que favorecen la endocitosis del virus. Por lo tanto, las mutaciones y modificaciones posteriores a la transducción que sufre esta proteína en cada ciclo de replicación, pueden afectar directamente la eficiencia de la replicación, la virulencia y el tropismo del DENV, al igual que puede regular el establecimiento y el control de la infección por parte del sistema inmunitario (13).

### **Proteínas no estructurales**

Las proteínas no estructurales son: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5. La función o funciones de cada una de las proteínas no estructurales (NS, non structural proteins) del DENV se han definido parcialmente. La proteína NS1 (46 kDa) forma dímeros o hexámeros asociados a balsas lipídicas (rafts) de la membrana plasmática. También, se puede encontrar soluble en el citoplasma y en el espacio extracelular; por esta razón, NS1 puede estimular al sistema inmunitario (13). La función de NS1 en la replicación viral no se entiende bien excepto que parece ser esencial para unir el complejo de replicación a la membrana del retículo endoplasmático. Adicionalmente, se postula a la NS1 como un elemento fundamental en el desarrollo de la patogénesis de la enfermedad. Al respecto, en los niños las concentraciones plasmáticas elevadas de NS1 al inicio de la enfermedad, se han relacionado con el desarrollo de una enfermedad más grave, posiblemente reflejando las cargas virales más altas en estos pacientes (14). El potencial de la relación entre las concentraciones de NS1 al inicio de la enfermedad para predecir el desenlace clínico de la infección se ha sugerido pero no evaluado en la población pediátrica (15).

La NS2A es una proteína de 22 kDa aproximadamente, la cual *In Vitro* promueve el ensamblaje y la replicación viral. La proteína NS3 (70 kDa) es una proteína bipartita que posee en el extremo N-terminal un dominio proteasa similar a la tripsina (NS3pro) y en el extremo C-terminal posee un dominio con diferentes actividades enzimáticas, que actúa como trifosfatasa de nucleótidos estimulada por RNA (NTPase) y como helicasa del RNA (NS3Hel); ambas funciones son indispensables en la replicación viral (13).

La proteína NS5 es la más conservada entre todos los flavivirus; esta proteína es multifuncional, dado que el extremo N-terminal posee actividad enzimática de metiltransferasa y guanidiltransferasa, responsables del “capping” y la metilación del extremo 5´ del ARN genómico, mientras que, en el extremo C-terminal, se ubica el dominio de RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRps). Por lo tanto, la proteína NS5 actúa como la única polimerasa durante la replicación y transcripción virales. Aunque estos procesos suceden exclusivamente en el citoplasma de la célula infectada, se ha identificado una señal de localización nuclear en la proteína NS5 que facilita su importación al núcleo; sin embargo, la razón y la función de la NS5 en el núcleo no se conocen (13).

### **2.3 Epidemiología**

En Colombia, la proliferación del mosquito *Aedes aegypti* (principal vector del virus) en las regiones cálidas del territorio nacional, especialmente en las zonas urbanas y semiurbanas, ha convertido el dengue en una enfermedad endémica (7). Aproximadamente 23 millones de personas en Colombia están en riesgo de contraer dicha enfermedad (7).

A pesar de que se ha considerado que tradicionalmente el mosquito portador se encuentra en zonas tropicales y subtropicales, informes recientes sugieren que el vector se detecta en altitudes superiores a los 1.800 metros sobre el nivel del mar. Este dato sugiere que más personas estarían expuestas a contraer dicha enfermedad (8). La identificación de los

serotipos circulantes en el país mostró un aumento en la circulación del serotipo 1 y una disminución del serotipo 3, sin embargo, se ha reportado que circulan los cuatro serotipos simultáneamente (3).

Entre el 2000 y el 2011 en Colombia, el número anual de casos de dengue no grave reportados en los sistemas de vigilancia del país, osciló entre 22.775 (año 2000) y 147.670 (año 2010). En todo este período, el número anual de casos de la enfermedad de dengue grave alcanzó un máximo de 9.777 casos (38,3 por 100.000 habitantes) en el año 2010 y, un mínimo de 1.383 en el año 2011, siendo en la mayoría de los casos la población de menores de 15 años de edad la más afectada. Se observó también una mayor incidencia en el año 2009 en los menores de 1 año de edad (4).

Según reporte del boletín epidemiológico del Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia, hasta la semana epidemiológica 46 de 2015 se han notificado en el Sistema de Vigilancia Salud Pública (SIVIGILA), 82.308 casos totales de dengue, 81.193 casos (98,6 %) de dengue y 1115 casos (1,4 %) dengue grave (16). Con respecto al mismo periodo epidemiológico de 2014, se presentó una reducción de 13.374 casos, lo que representa un 14,0% de variación. Se han notificado en promedio 1.789 casos semanales en lo corrido de 2015 (16).

En la distribución según el sexo, el 51,4% de los casos de dengue se presentó en hombres. En general el 50,1% pertenecen al régimen contributivo, 41,3% al régimen subsidiado. El 33,4 % de los casos de dengue se concentró en los menores de 14 años y 52,0% de los casos de dengue grave. En general, se han notificado 860 casos (1,0%) en población

indígena y 2157 casos (2,6%) en afrocolombianos. El 81% de los casos de dengue proceden de 12 entidades territoriales: Valle del Cauca con 21,7%, Santander con 9,3%, Tolima con 9,5%, Meta con 7,2%, Antioquia con 6,8 %, Huila con 4,8%, Quindío con 4,3%, Norte de Santander con 3,9%, Cesar con 4,1%, Cundinamarca con 3,4 %, Sucre con 3,1 % y Bolívar con 2,5 %.

Para dengue grave el 80 % de los casos se concentró en 12 entidades territoriales: Tolima con el 22,5 %, Huila con 11,1 %, Valle con 10,2 %, Bolívar con 5,2 %, Antioquía con 4,8 %, Sucre con 4,3 %, Cesar con 4,3 %, Norte De Santander con 3,9 %, Meta con 3,6 %, Santander con 3,3 %, Atlántico con 3,5% y Cundinamarca con 3,0 %. El 50 % de los casos de dengue procede de 22 municipios, de los cuales aportan el mayor número de casos: Cali, Ibagué, Bucaramanga, Medellín, Villavicencio, Armenia, Cúcuta y Neiva, que a su vez han notificado más de 1500 casos durante las 46 semanas epidemiológicas del año. Para dengue grave, el 50 % de los casos de dengue procede de 21 municipios, de los cuales el mayor número de casos lo aportan: Ibagué, Cali, Neiva, Purificación, Barranquilla, Cúcuta y Medellín, que a su vez han notificado más de 24 casos en 2015 (16).

La incidencia nacional de dengue a semana epidemiológica 46 de 2015 es de 304 casos por 100.000 habitantes, cuya población a riesgo corresponde a la población urbana del país. La incidencia nacional fue superada por 18 entidades territoriales, siendo Meta, Tolima, Boyacá, Quindío, Casanare, Cundinamarca y Putumayo, las entidades que presentaron proporciones de incidencia superiores a 550 casos por 100.000 habitantes en riesgo.

En cuanto a la proporción de incidencia para dengue en municipio híper-endémicos se observó que Acacias, Melgar, Yopal, Ibagué, Calarcá, Espinal, Aguazul, San Gil, Armenia, Cali y Garzón presentaron incidencias superiores a 540 casos por 100.000 habitantes. Para dengue grave los municipios de Espinal, Ibagué, Neiva y Aguazul presentaron incidencias superiores a 10,6 casos por 100.000 habitantes. A nivel nacional, la hospitalización para los casos de DSA fue de 64,1 % (17.782/27.757). La hospitalización para los casos de DG fue de 91,7 % (1022/1115); Arauca, Guaviare, Magdalena, la Guajira, Casanare, Cundinamarca y Atlántico presentaron hospitalizaciones inferiores al 80 %. Solo nueve entidades territoriales reportaron un 100 % de hospitalización (San Andrés, Putumayo, Cartagena, Nariño, Caldas, Cauca, Amazonas, Boyacá y Norte de Santander (16).

Hasta la semana epidemiológica 46 de 2015 se han confirmado 61 muertes por dengue, procedentes de las entidades territoriales de Amazonas, Córdoba, Caldas, Cartagena, la Guajira, Santa Marta, Cauca, Magdalena, Casanare y Quindío con una muerte cada uno; Bolívar, Huila, Caquetá y Sucre con dos muertes cada uno; Santander, Norte de Santander, Cesar y Meta con tres muertes confirmadas cada uno, Cundinamarca con seis muertes confirmadas, Valle del Cauca con siete muertes, y Tolima con 18 muertes. Se han confirmado siete casos de co-infección Dengue – Chikungunya (16).

#### **2.4 Descripción clínica**

La propagación del virus es posible gracias a un ciclo de transmisión humano-mosquito-humano. El principal vector del virus es la hembra del genero *Aedes aegypti* que luego de

consumir sangre infectada, permite la replicación del virus en su intestino y glándulas salivares por 8-12 días, para transmitirlo de nuevo al alimentarse picando un individuo susceptible. Después de la picadura del mosquito, transcurre un periodo de incubación de 2 a 7 días durante el cual el virus se localiza y se replica en los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado; luego pasa hasta la sangre (fase de viremia) para infectar leucocitos y otros tejidos linfáticos. En este momento aparecen los signos y síntomas característicos, que pueden identificarse clínicamente como: Fase febril, Fase crítica y Fase de recuperación (5).

- **Fase febril:** Después del periodo de incubación que coincide con el periodo de viremia, el dengue comienza con fiebre alta de inicio súbito, escalofrío, cefalea y dolor retro-ocular. Las mialgias, artralgias y dolor lumbar son característicos de esta etapa temprana de la enfermedad. Puede haber edema palpebral, enrojecimiento facial y congestión conjuntival, anorexia y astenia, exantema macular o morbiliforme y manifestaciones hemorrágicas espontáneas menores como sangrado nasal, gingival y petequias (17). En general, estos signos son inespecíficos y hace difícil el diagnóstico preciso, si no se hace la investigación del caso en el laboratorio.

- **Fase Crítica:** Hacia el día 4 o 5 de enfermedad, la fiebre disminuye (defervescencia) y se inicia la fase crítica que puede durar hasta 3 días. En este momento, el signo clave para identificar el riesgo de complicaciones es la fuga plasmática. Una proporción alta de pacientes presentan cambios en la permeabilidad capilar con signos clínicos y de

laboratorio como el aumento del hematocrito, edema y linfopenia. Estos últimos hacen posible identificar los “signos de alarma”, que pueden predecir el inicio de un cuadro de DG, acompañado de signos como dolor abdominal intenso y persistente, más de tres episodios de vomito diarios, hipotermia súbita, decaimiento, irritabilidad, somnolencia y trombocitopenia. Además del sangrado en mucosas (gingivorragia, epistaxis, sangrado gástrico), es frecuente la metrorragia que se confunde con sangrado menstrual. En el examen clínico se puede sospechar la existencia de derrame pleural o ascitis, pero deben ser evaluados con imágenes diagnósticas (18).

La infección por cualquier serotipo DENV induce un amplio espectro de manifestaciones que van desde la ausencia de síntomas hasta la muerte. Aunque un gran porcentaje de los casos son asintomáticos, en los casos sintomáticos, la severidad del cuadro clínico podría depender de factores como el serotipo viral, la virulencia de la cepa, del estado nutricional, los factores genéticos del hospedero y la historia de infecciones previas con otros serotipos de DENV (5). Las características clínicas de la fiebre del dengue dependen a menudo de la edad del afectado; así, lactantes y preescolares pueden sufrir un cuadro febril indiferenciado con erupción maculopapular mientras que en los adolescentes la duración de la fiebre y el conjunto sintomático son de mayor intensidad (19). En los lactantes y niños pequeños, la enfermedad puede ser inespecífica o caracterizarse por fiebre entre 1 y 5 días, inflamación faríngea, rinitis y tos ligera (20).

En la mayoría de los niños mayores el dengue se presenta como un cuadro pseudogripal postrante, caracterizado por comienzo súbito de fiebre, que alcanza con rapidez los 39,4-41,1°C; suele estar acompañada de cefalea (frecuentemente retro-orbital pulsátil), dolor retro-ocular especialmente cuando se aplica presión sobre los ojos, inyección conjuntival, debilidad, artralgias, mialgias, posibles petequias, eritema faríngeo, náuseas, vómitos, y alteraciones en la percepción del sabor de los alimentos y las bebidas (21). La fiebre puede estar precedida por un dolor de espalda intenso. En algunas ocasiones, este cuadro clínico también se acompaña síntomas respiratorios (22) y diarrea la cual aparece sobre todo en niños pequeños (23). Durante las primeras 24 a 48 horas del proceso febril, se puede ver un exantema macular, generalizado y transitorio, que se blanquea al aplicar presión. Uno a dos días después de la defervescencia aparece un exantema maculopapular morbiliforme generalizado, que respeta las palmas de las manos y las plantas de los pies y desaparece en un plazo de 1 a 5 días; se puede producir descamación. Más o menos cuando aparece el segundo exantema, la temperatura, que ha disminuido previamente hasta el nivel normal, puede aumentar ligeramente y mostrar el característico patrón de fiebre bifásico (19). En pacientes con diagnóstico de dengue sin signos de alarma, se detectan citoquinas de tipo Th1 como IFN $\gamma$  e interleucina 2 (IL-2) (13).

Las manifestaciones severas del dengue en pediatría y en adultos, suceden mediante un mecanismo denominado reforzamiento inmunológico (*immune enhancement*), favorecido usualmente por infecciones secuenciales por serotipos heterólogos (21). Estas formas complicadas aparecen con mayor frecuencia en los niños o adultos que han presentado la enfermedad previamente y en aquellos neonatos a los que la madre les ha transferido

anticuerpos. Se ha visto que estos pacientes que presentan anticuerpos contra DENV tienen mayor riesgo, si se contagian nuevamente, de presentar la forma severa (24). La presencia de anticuerpos de una infección previa, opsoniza el nuevo serotipo, llevándolo hasta monocitos y macrófagos, aumentando la replicación viral y potenciando la respuesta inmune, lo cual se relaciona con cuadros clínicos graves, caracterizados por aumento de la permeabilidad vascular, hipovolemia y alteraciones de la coagulación (19).

En los pacientes con DG, se detectan citoquinas de tipo Th2, como las IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10. Particularmente, la IL-8 se presenta en grandes concentraciones en el suero de estos pacientes y, en algunos casos, este incremento se asocia con un aumento en la permeabilidad vascular, la efusión pleural y la muerte de los pacientes (13).

El estudio realizado por *Restrepo, et al* (2), se evaluó la incidencia de dengue, en una cohorte de 2.379 alumnos de tres escuelas en Medellín, Colombia, en el año 2010. De estos se logró hacer el seguimiento a 1.840 en el segundo año y se encontró que 264 niños en edad escolar presentaron 297 episodios febriles; de éstos, 23 episodios (7,7%) fueron causadas por la infección del dengue aguda, con cualquiera de los cuatro serotipos y, todos los casos fueron leves. Los síntomas más comunes en los casos en comparación con los de otras enfermedades febriles fueron astenia (96% versus 87%), anorexia (78% versus 57%), rinorrea (65,2% frente a 58%), dolor abdominal (56,5% frente a 47,8 %), artralgia (43% versus 33%), y la prueba de torniquete positiva (13% versus 3%).

El estudio descriptivo retrospectivo realizado por *Arboleda et al* (25) detalla en el año 2000 el comportamiento clínico del dengue en 45 pacientes del área urbana (82,8%) con edades

entre los 5 meses y 68 años, con un promedio de 22,1 años, hospitalizados por esta causa en la Empresa Social del Estado Hospital Antonio Roldán Betancur de Apartadó en Colombia. Se encontraron tres (6,7%) pacientes con dengue clásico, 22 (48,9%) con dengue con manifestaciones hemorrágicas y 20 (44,4%) con dengue hemorrágico. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron: fiebre (100%), mialgias y artralgias (71,1%), cefalea (70,5%) y dolor abdominal (67,5%). Las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes fueron petequias (60%), hematuria (31,7%), equimosis en sitios de venopunción (24,4%), melenas (22,2%), hematemesis (15,5%) y hemorragias vaginales anormales (15,5%). El recuento de plaquetas osciló entre 11.000 y 186.000/mm<sup>3</sup>, con un promedio de 48.688. Los hematocritos oscilaron entre 26 y 59%, con un promedio de 41,5%. Fallecieron 4 (8,8%) pacientes, tres de éstos menores de un año. En el 40% de los casos se hicieron otros diagnósticos simultáneamente, siendo malaria la coinfección más frecuente, con 17,7% (8/45) de los casos.

En el estudio realizado por *Méndez, et al* (26), en Bucaramanga, Colombia, se evaluaron en un período de 10 años (febrero de 1992 a febrero de 2002), las características clínicas, de laboratorio y evolución de la enfermedad, en 763 menores de 13 años hospitalizados. De estos 617 fueron clasificados como dengue hemorrágico de acuerdo con los criterios antiguos de la OMS (9,2%, grado I; 61,5%, grado II; 21,7%, grado III, y 7,5%, grado IV). Del total, 74,9% procedía del área metropolitana de Bucaramanga; 48% eran del género masculino; 0,3% eran recién nacidos; lactantes 11,8%, preescolares 23,1%, y escolares 64,9%. Las principales manifestaciones clínicas fueron: fiebre 100%, manifestaciones hemorrágicas, 100%; vómito 60%; dolor abdominal 57%; cefalea 50%, dolor osteomuscular 40,8%, hepatomegalia 33%, y exantemas 29,4%. Entre las manifestaciones

hemorrágicas, las petequias representaron el 56%, prueba de torniquete positiva 35%, hemorragias digestivas 34%, y epistaxis 32%. Presentaron derrames serosos 17,7%. Entre los signos de alarma para choque se destacó el dolor abdominal intenso. En 52% de los pacientes se encontró leucopenia y linfocitos atípicos en 37,3%. Entre otras manifestaciones inusuales se presentaron hepatitis, encefalopatía, colecistitis acalculosa, insuficiencia renal aguda, síndrome hemofagocítico, infecciones sobre agregadas y enfermedades concomitantes. La evolución fue favorable en la mayoría de los pacientes y fallecieron 12 pacientes (1,5%).

En otro estudio descriptivo realizado por *Gómez, et al (27)*, en pacientes hospitalizados por dengue en el Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja de la ciudad de Cartagena, Colombia, se evaluaron las manifestaciones clínicas en 136 niños con cuadros febriles agudos de etiología inaparente. Se utilizaron pruebas serológicas para confirmar la infección por el virus del dengue y de estos 98 casos de niños fueron hospitalizados con diagnóstico de dengue. La edad osciló entre menores de 6 meses a 16 años, siendo el rango de edades con mayor frecuencia de la enfermedad de 10 a 16 años (33,7 %). Los signos y síntomas más frecuentes fueron: exantema (49,0 %), mialgia (35,7 %), cefalea (33,7 %), artralgia (33,7 %), anorexia (24,5 %), prueba de torniquete positiva (19,4%), prurito (11,2 %), escalofrío (8,2 %), eritema facial (7,1 %) y dolor retro ocular (6,1 %).

En el estudio realizado por *Alvis - Guzmán N, et al (28)*, se describió la frecuencia y severidad del dengue en el departamento de Córdoba de la región caribe colombiana. La incidencia media de dengue entre 2003-2010 fue de 36.5 casos por cien mil habitantes (IC95%: 34.3-37.5) y ajustando por sub-registro podría estar entre 178.5 y 521.6. La

incidencia media de DG fue de 4.7 casos por cien mil habitantes (IC95%: 4.3-5.0). La tasa promedio de mortalidad por el dengue durante el período fue de 0.3 casos por cien mil habitantes. El recuento leucocitario total promedio en los pacientes con dengue fue 6,181 por mm<sup>3</sup> (IC95%: 5,973-6,389) y con DG fue 4,729 por mm<sup>3</sup> (IC95%: 4,220-5,238). El recuento medio de plaquetas en pacientes con dengue fue 118,793/mm<sup>3</sup> (IC95%: 107,255-130,331) y en pacientes con DG fue 77,655 (IC95%: 59,640-95,670). Las diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Las manifestaciones neurológicas del dengue en la población pediátrica de Colombia han sido descritas por el equipo de Pediatría del Hospital Universitario de Santander en Bucaramanga. Después de estudiar retrospectivamente más de 900 niños con dengue hemorrágico entre los años 1992 y 2004, reportaron que 168 (18.66%) de los niños presentaron manifestaciones atípicas. De estos, el 25% presentaron signos neurológicos (46 pacientes con encefalopatía y 3 con encefalitis) y mayores tasas de mortalidad (26) (29). En ese momento, los resultados permitieron proponer que la presencia de manifestaciones neurológicas, debería ser uno de los criterios de severidad del dengue, tal como ocurrió en las redefiniciones posteriores.

En el estudio de *Rodríguez, et al* (30), se describieron las causas de mortalidad por dengue hemorrágico en niños menores de 13 años en el Hospital Universitario de Neiva, Colombia. Registraron todos los pacientes fallecidos con diagnóstico de dengue hemorrágico entre los años 2000 y 2006. De 1.448 niños con dengue hemorrágico, 338 ingresaron a la unidad de cuidados intensivos pediátricos y hubo 15 casos fatales (letalidad 1,03%); el 40% ingresó en estadio III y 60% en estadio IV. Los síntomas gastrointestinales y signos de fuga

vascular estuvieron presentes en el 100% de los casos. Hubo una mayor tendencia a la hipotensión, menor número de plaquetas y mayor elevación de transaminasas en el grupo de niños de 1 a 5 años; no hubo diferencias significativas en las demás variables analizadas entre los grupos. Nueve pacientes fallecieron de miocarditis aguda (60%) con alteraciones del ritmo, de los cuales, dos presentaron elevación de transaminasas; tres niños presentaron hepatitis aguda (20%) y otros tres revelaron Coagulación Intravascular Diseminada (CID) (20%).

## **2.5 Diagnóstico y definición de casos**

Los grupos expertos de consenso en América Latina (Habana, Cuba, 2007), Asia Suroriental (Kuala Lumpur, Malasia, 2007) y, en las oficinas principales de la OMS en Ginebra, Suiza en el 2008 acordaron que: *“el dengue es una sola enfermedad con presentaciones clínicas diferentes y a menudo con evolución clínica y resultados impredecibles”* (8).

La clasificación según la gravedad (**Figura 1**), tiene un gran potencial para su uso práctico por los médicos tratantes para decidir dónde y con qué intensidad se debe observar y tratar al paciente (es decir, el “triage”, especialmente útil en los brotes), para una notificación de casos más acorde con el sistema de vigilancia epidemiológica nacional e internacional y, como una medida final en los ensayos de vacunas y medicamentos contra el dengue (8).

**Figura 1:** Clasificación de casos de dengue y niveles de gravedad.

## Dengue ± signos de alarma



## Dengue grave



CRITERIOS PARA EL DENGUE CON SIGNOS DE ALARMA Y SIN ELLOS		CRITERIOS PARA DENGUE GRAVE
Dengue probable	Signos de alarma	Extravasación grave de plasma que conduce a:
Vivir en áreas endémicas de dengue/viajar a ellas. Fiebre y dos o más de los siguientes criterios: ✓ Náuseas, vómito ✓ Erupción cutánea ✓ Molestias y dolores ✓ Prueba de torniquete positiva ✓ Leucopenia ✓ Cualquier signo de alarma	✓ Dolor abdominal intenso o abdomen doloroso a la palpación ✓ Vómitos persistentes ✓ Acumulación clínica de líquidos ✓ Sangrado de mucosas ✓ Letargia, agitación ✓ Hepatomegalia >2 cm ✓ Laboratorio: aumento del hematocrito concurrente con rápida disminución del número de plaquetas	✓ Acumulación de líquidos con insuficiencia respiratoria ✓ Sangrado intenso ✓ según la evaluación del médico tratante  Compromiso orgánico grave ✓ Hígado: AST o ALT 1000 ✓ Sistema nervioso central: Alteración de la conciencia

		✓ Corazón y otros órganos
--	--	------------------------------

*Adaptado de dengue. Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control OMS y programa especial para investigación y capacitación de enfermedades tropicales. 2009*

El diagnóstico clínico de dengue en los primeros días de enfermedad es difícil (10), dado que se presenta como un SFA con síntomas inespecíficos. Además, su diagnóstico diferencial comprende una amplia variedad de entidades, entre las cuales están enfermedades como la influenza, la rubéola, la gastroenteritis, la fiebre tifoidea, la fiebre amarilla, el paludismo y la leptospirosis (11) (12). Lo anterior genera una alta discordancia entre el diagnóstico clínico y de laboratorio, por lo que se deben de establecer escalas de aproximación diagnóstica para dengue en especial para la población pediátrica, sumado a la importancia de confirmar la infección con pruebas de laboratorio (8).

Existen escalas de aproximación diagnóstica para dengue propuestas por *Tuan et al* (31) y *Díaz-Quijano et al* (10). La primera escala de aproximación diagnóstica que se describirá, se basó en el estudio prospectivo multicéntrico en el sur de Vietnam, entre el período 2010-2012 realizado por *Tuan et al* (31). Se incluyeron 5729 niños menores de 15 años con fiebre de menos de 72 horas de evolución. Este estudio propone la utilización de una escala de aproximación diagnóstica, en la que se utiliza la edad del paciente y el recuento de leucocitos y plaquetas para discriminar los casos de dengue de los pacientes con SFA por otras causas. Esta escala tuvo una sensibilidad del 74,8% (IC 95%: 73,0-76,8%) y una especificidad del 76,3% (IC 95%: 75,2-77,6%) para el diagnóstico de dengue. Esta se

utilizó como una prueba adyuvante junto con las pruebas rápidas NS1, alcanzándose una sensibilidad de la prueba global de 91,6% (IC 95%: 90,4-92,9%).

La segunda escala de aproximación diagnóstica a describir, se basó en el estudio realizado por *Díaz-Quijano et al* (10), en una cohorte de adultos y niños mayores de 12 años con SFA sin causa aparente en Bucaramanga, Colombia. En la población compuesta por 125 casos de dengue (confirmados serológica o virológicamente) y 126 de síndrome febril de otra etiología, se determinaron las manifestaciones clínicas tempranas (en los primeros cuatro días de la enfermedad) asociadas al dengue y con ellas se formularon y evaluaron diversas combinaciones diagnósticas. En la escala de aproximación diagnóstica que se propuso en este estudio, se incluyen: exantema, prueba de torniquete positiva, ausencia de rinorrea, artralgias, ausencia de diarrea (1 punto por cada hallazgo), recuentos de leucocitos  $<4.000/\text{mm}^3$ , (3 puntos) y plaquetas  $<180.000/\text{mm}^3$  (2 puntos). Con resultados  $\geq 3$  puntos se obtuvo una sensibilidad de 95,2%, una especificidad de 27,8%, un valor diagnóstico positivo de 56,7%, un valor diagnóstico negativo de 85,4%. Con  $\geq 6$  puntos se obtuvo una sensibilidad de 70,4%, una especificidad de 78,6%, un valor diagnóstico positivo de 76,5%, un valor diagnóstico negativo de 72,8%. Con  $\geq 8$  puntos se obtuvo una sensibilidad de 42,4%, una especificidad de 96%, un valor diagnóstico positivo de 91,4%, un valor diagnóstico negativo de 62,7%. Con 9 o 10 puntos, la especificidad y el valor diagnóstico positivo fueron de 100%.

Sumado a las escalas de aproximación diagnóstica, la estrategia de diagnóstico de dengue por laboratorio es similar a la utilizada en otras infecciones virales. La infección por DENV se puede confirmar mediante la detección del virus en el suero, ya sea mediante la detección del antígeno soluble (NS1), la detección de RNA viral o mediante el aislamiento del virus en cultivos de células (métodos virológicos). También puede ser confirmado mediante la evaluación de la existencia de una respuesta inmunológica específica (métodos serológicos), lo que implica la aparición y la detección de anticuerpos IgM en la fase aguda y, los anticuerpos de IgG en la fase de convalecencia y de neutralización (32). Un resultado positivo para dengue puede corresponder a la detección de un virus si se encuentra la proteína viral NS1 (a través de la prueba de ELISA o inmunocromatografía) o mediante la amplificación del RNA viral a través de RT-PCR. Esto es posible en pacientes con menos de 5 días de evolución, aunque entre más corto es el tiempo de la iniciación de la fiebre, mayor será la probabilidad de detección (32).

La prueba más específica y menos sensible, es la prueba de "aislamiento viral"; sin embargo, requiere la inoculación de suero del paciente en cultivos celulares y más tarde la confirmación del diagnóstico haciendo inmunofluorescencia o mediante RT-PCR. Debido a la baja sensibilidad de estas tres técnicas, un resultado negativo no excluye el diagnóstico de dengue. Por lo tanto, siempre que sea posible, se recomienda que al menos dos de las pruebas se deben ejecutar en forma simultánea. La prueba patrón de oro en el diagnóstico es el ELISA de captura para la detección de anticuerpos IgM o IgG en dos muestras del mismo paciente tomada con un intervalo de al menos siete días. En algunos casos se puede demostrar que el suero de la fase aguda es negativo (o con una señal de baja capacidad de absorción) y que la muestra de la fase de convalecencia muestra la señal (seroconversión) o

la señal aumenta significativamente. Sin embargo, en la gran mayoría de los casos sólo una muestra del paciente es posible y disponible (solo suero), la cual suele ser tomada durante la fase aguda. Si está sola muestra es positiva con IgM o IgG de captura, el caso se considera "indeterminado" excepto si se hace una prueba de detección de RT-PCR o NS1. Desafortunadamente, este es el estado más frecuente de definición de casos en Colombia. Con frecuencia, en zonas endémicas de dengue, hay pacientes que consultan debido a un síndrome febril que es compatible con los síntomas de dengue y presentan una serología IgM positivo. Es imposible con esta sola prueba comprobar que el caso febril sea debido a DENV, dado que la serología positiva de un solo suero podría ser debido a una presentación del dengue que se ha producido en los últimos tres meses (32).

La mortalidad por dengue es evitable en el 98% de los casos y está estrechamente relacionada con la calidad en la atención de paciente y la identificación precoz de los casos busca principalmente evitar la mortalidad (9).

## **2.6 Promoción y prevención**

Dada la magnitud de los problemas relacionados con la presencia del dengue dentro del territorio nacional, se plantea la necesidad de crear programas que tengan como objetivo vincular a la comunidad en general para establecer acciones efectivas de prevención, control y vigilancia en salud pública y controlar la infestación por *A. aegypti*. Esto es, combinando diferentes acciones y métodos de prevención y control mediante la ejecución de acciones como las siguientes (3):

- Eliminación de criaderos de mosquitos mediante la protección de depósitos de agua de consumo y destrucción o relleno de recipientes que puedan acumular agua lluvia.
- Prevención de picaduras de mosquitos mediante el uso de toldillos para aislamiento de los enfermos o como medida de protección de todas las personas.
- Uso de repelentes, protección de puertas y ventanas para evitar la introducción del mosquito en el domicilio.
- Control efectivo de epidemias mediante la adopción de medidas de control químico y la atención oportuna de casos febriles.

En la actualidad, no existe una vacuna completamente aprobada que se pueda utilizar para contrarrestar esta enfermedad. Una vacuna segura, efectiva y asequible contra el dengue representaría un gran avance en el control de la enfermedad y podría ser utilizada como un instrumento importante para alcanzar el objetivo de la OMS, reducir la morbilidad del dengue al menos en un 25%, y su mortalidad al menos en un 50% para 2020. Existen varias vacunas que se encuentran en fase de desarrollo clínico. Una de estas se encuentra en la fase más avanzada de desarrollo clínico, una vacuna tetravalente con virus vivos atenuados (CYD-TDV) desarrollada por Sanofi Pasteur (33).

### **3 PROBLEMA**

En Colombia, el dengue representa un problema prioritario en salud pública debido a la intensa y creciente transmisión en los últimos años. Esto es especialmente importante

porque se han observado ciclos epidémicos cada vez más cortos, con el aumento en la frecuencia de brotes de DG y otras formas graves de la enfermedad. La circulación simultánea de los cuatro serotipos virales, la infestación por *Aedes aegypti* en más del 90% del territorio nacional y el desplazamiento por la situación de violencia en el país, ponen en riesgo de padecer dengue a aproximadamente a 25 millones de colombianos que habitan en zonas donde la transmisión de esta enfermedad es generalizada.

A pesar de los avances tecnológicos en los últimos años en cuanto las técnicas inmunológicas, virológicas, moleculares y celulares, aún se observan dificultades objetivas para poder confirmar los casos de dengue, en especial en la población pediátrica. Estas dificultades van desde problemas para reconocer las características particulares sobre la forma cómo la enfermedad se presenta clínicamente en los niños hasta problemas operativos para la confirmación por laboratorio, como por ejemplo el momento adecuado para la toma de muestra, su manipulación y transporte al laboratorio, así como, las pruebas a realizar según el nivel de experticia del laboratorio y el tiempo de entrega de los resultados. Por otra parte, la dificultad de un diagnóstico clínico de mayor especificidad y la poca experiencia de los laboratorios de primer y segundo nivel en el tema. Estas y otras dificultades crean la necesidad e importancia de generar nuevos espacios para poder asumir la tarea en la realización de un diagnóstico de manera integral.

Aunque la infección por DENV causa una sintomatología, que generalmente es leve, en ocasiones asintomática, existe un porcentaje alrededor del 5-10% de los pacientes en los

que la enfermedad es muy severa y puede llegar a ser fatal. Por lo tanto, el diagnóstico rápido, confiable y sensible es pieza clave para definir el manejo de los pacientes febriles. Sin embargo, este diagnóstico no siempre se logra ya que en algunos lugares no se cuenta con un algoritmo de diagnóstico eficiente para la población pediátrica. Generalmente, las herramientas diagnósticas son inadecuadas o las técnicas empleadas no se correlacionan con las condiciones epidemiológicas propias. Como consecuencia, esto resultaría en mayor carga de la enfermedad, el uso inapropiado de medicamentos y sus reacciones adversas y, sobre todo, un alto número de diagnósticos errados, que no ayudan a controlar la transmisión y en el peor de los casos, sin impactar el tratamiento del paciente.

En Colombia no contamos con una descripción sistemática de la presentación clínica de la enfermedad en población pediátrica, sumado a una baja proporción de confirmación de casos con las guías nacionales para dengue actuales. Por lo tanto, se hace necesario hacer un análisis de las características de la enfermedad en los niños en Colombia, con una elaboración de descripciones sistemáticas que orienten al clínico hacia un diagnóstico y tratamiento oportuno para el paciente pediátrico.

### **3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

- 1) ¿Cuáles son las características clínicas de los niños menores de 14 años en zona endémica para dengue?
  
- 2) ¿Existen marcadores serológicos o virológicos involucrados en la presentación clínica grave de la enfermedad?

#### **4 JUSTIFICACIÓN**

La ausencia de un diagnóstico específico que permita determinar el tratamiento a seguir en los casos de los niños afectados, dificulta en gran medida la toma de decisiones adecuadas en tales casos. De ahí que se hace necesario realizar un diagnóstico certero que permita tomar decisiones de tratamiento soportado en pruebas de laboratorio tanto paraclínico como especializado.

La nueva clasificación de la enfermedad del dengue lanzada en el 2009, ha permitido a los clínicos identificar mejor los casos que pueden desarrollar complicaciones graves. Igualmente, se ha recomendado la elaboración de nuevos estudios que profundicen en la descripción de las características de la presentación clínica en diferentes países y regiones que validen las estrategias de diagnóstico clínico y, que a su vez, sean complementadas por un abordaje más amplio de diagnóstico por laboratorio, tanto a nivel institucional, como a nivel de laboratorios especializados. Es así como esta propuesta se encamina a validar una aproximación diagnóstica en la población pediátrica, basada en la revisión sistemática de los signos y síntomas y pruebas de laboratorio en varios niveles, que pueda ser usada como insumo para la redefinición de los protocolos de atención de pacientes con dengue y favorezca la vigilancia epidemiológica, confirmando un mayor número de casos.

#### **5 OBJETIVOS**

## **5.1 OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar las manifestaciones clínicas, métodos diagnósticos y el uso de dos escalas de aproximación diagnóstica de dengue, en una población pediátrica del municipio de Girardot, en el departamento de Cundinamarca, Colombia.

## **5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir las características demográficas y clínicas de los pacientes pediátricos con dengue en cada uno de sus grupos de clasificación, atendidos en forma ambulatoria y hospitalizados en el Hospital la Samaritana - Unidad Funcional Girardot, en el municipio de Girardot, durante el periodo de estudio.
- Evaluar el uso de dos escalas de aproximación diagnóstica de dengue, en una población infantil admitida con SFA al Hospital La Samaritana - Unidad Funcional Girardot, municipio de Girardot, durante el periodo de estudio.
- Determinar la frecuencia de las complicaciones presentadas por los pacientes con dengue durante el periodo de estudio.
- Evaluar la asociación de marcadores hematológicos y serológicos asociados con la presentación del dengue grave.

## **6 METODOLOGÍA**

### **6.1 TIPO Y DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO**

Estudio observacional descriptivo, prospectivo tipo serie de casos.

### **6.2 POBLACIÓN DE REFERENCIA Y MUESTRA**

Todos los pacientes en edad pediátrica mayores de 28 días hasta los 14 años de edad, quienes consultaron por SFA en los últimos 7 días en atención ambulatoria y fueron admitidos del Hospital Universitario de La Samaritana (HUS) - Unidad Funcional Girardot, municipio de Girardot departamento de Cundinamarca en Colombia, entre 1 marzo al 31 diciembre de 2014.

### **6.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

#### **Criterios de inclusión:**

- Enfermedad de menos de 10 días de evolución de cuadro de fiebre de comienzo agudo (contada a partir del inicio de la fiebre).
- Aceptación de la participación en el estudio mediante la firma de su acudiente del consentimiento informado, el cual fue previamente revisado y aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigaciones del Hospital Universitario de La Samaritana.

### **Criterios de exclusión:**

- Evidencia clínica de otro proceso infeccioso que explicara de forma parcial o total la enfermedad actual
- Residencia en zona rural o de difícil acceso para el seguimiento clínico.
- Los menores de 28 días de edad no se incluyeron en este estudio debido a que los puntos de corte para las variables de leucocitos y plaquetas son diferentes al resto de la población pediátrica.

### **6.4 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES DEL ESTUDIO**

Los datos se recogieron en un formato de evaluación clínica (**anexo 1**), en donde se incluyeron los datos personales, signos y síntomas clínicos, variables fisiológicas como signos vitales, PDR (IgG e IgM, NS1), ELISA para la detección de NS1, ELISA para la detección de anticuerpos IgM e IgG, identificación del RNA y serotipificación del DENV. En el **anexo 2** se describen las variables que se incluyeron en el estudio.

### **6.5 TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN**

A continuación, se describen los procedimientos utilizados en el estudio para la recolección de la información:

1. Establecimiento de un algoritmo de laboratorio para la confirmación de casos de dengue en muestras de individuos con SFA atendidos en el HUS- Unidad Funcional Girardot. Este

algoritmo de laboratorio fue aprobado por el comité de ética del Centro de Investigaciones del HUS (Figura 2).

2. Se realizó la inclusión del paciente  $\geq 1$  mes y  $\leq 15$  años de edad al estudio, en el servicio de urgencias, hospitalización, en donde fue posible realizar el seguimiento del paciente para la vigilancia de la evolución y se documentó el desarrollo o no, de las complicaciones asociadas al dengue.

3. Se explicó el estudio al padre o acudiente.

4. Se firmó el consentimiento informado por parte del padre o acudiente a cargo del menor de edad. Adicionalmente, si el niño sabía escribir su nombre, firmó el documento en el lugar correspondiente denominada “Firma del Voluntario”. Si el niño no sabía escribir se tomó la huella digital.

5. Se diligenció el formato de evaluación clínica de individuos febriles (anexo 1) en donde se preguntó al paciente la fecha y hora de inicio de la fiebre, fecha y hora de inicio de los síntomas. En la parte de observaciones, se escribió el servicio en el que se encontraba el paciente (por ejemplo, ambulatorio, urgencias, hospitalización pediatría y/o Unidad de Cuidados Intensivos pediátricos).

6. Se tomó y procesó la muestra de sangre en la fase febril. Se identificaron correctamente los tubos, se centrifugaron, se separaron en alícuotas de suero, se aplicaron las pruebas de diagnóstico rápido (dengue Duo Cassette, dengue Early, Rapid) y el resto de la muestra fue separada en alícuotas y almacenada al igual que el tubo tapa lila hasta el momento del transporte al laboratorio de virología de la Universidad El Bosque.

7. Se realizó el registro de los resultados de las PDR de dengue en el formato, al mismo tiempo que se imprimieron los resultados del laboratorio clínico realizados al paciente en el momento de ingreso al estudio (por ejemplo, resultado hemograma, resultados transaminasas).

8. La coordinación de la toma de la muestra convaleciente se realizó basado en la referencia de información proporcionada por el médico sobre la evolución del paciente y el tiempo de permanencia en la Institución.

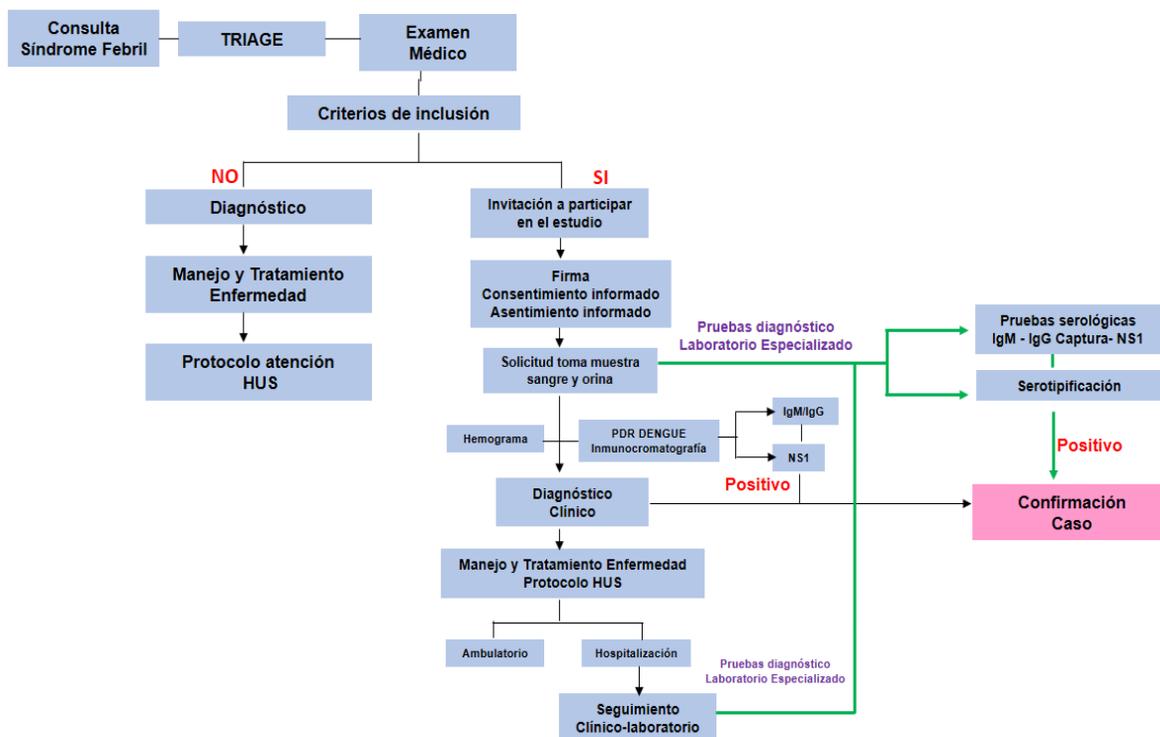
9. Después de tener la base de datos, se clasificaron clínicamente los casos de dengue de acuerdo a los criterios definidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2009 (**Tabla 1**): dengue sin Signos de Alarma (DSSA), dengue con Signos de Alarma (DSA) y dengue Grave (DG).

10. Se definieron como **Casos** a aquellos pacientes que tenían clasificación clínica según OMS y que tuvieran una confirmación por pruebas de laboratorio.

Los **No Casos** (OEF) fueron aquellos pacientes que cumplieron con los criterios clínicos según OMS para dengue, sin embargo, las pruebas diagnósticas fueron negativas.

11. A todos los pacientes que ingresaron al estudio, con la información clínica y de laboratorio se les realizó las escalas de aproximación diagnóstica de *Tuan et al* (24) y *Diaz-Quijano et al* (21).

**Figura 2.** Algoritmo de captación a pacientes.



**Tabla 1:** Definición operativa de caso (2).

Tipo de Caso	Características de la clasificación
Caso probable	<p><b>dengue sin signos de alarma:</b> enfermedad febril aguda (&lt;7 días) en la que se observan dos o más de las siguientes manifestaciones: cefalea, dolor retro ocular, mialgias, artralgias, erupción o exantema.</p> <p><b>dengue con Signos de alarma:</b> Paciente que cumple con la anterior definición y además presenta cualquiera de los siguientes signos de alarma: dolor abdominal intenso y continuo, vómitos persistentes, diarrea, somnolencia y/o irritabilidad, hipotensión postural, hepatomegalia dolorosa mayor a 2cms, disminución de la diuresis, caída de la temperatura, hemorragias en mucosas, caída abrupta de plaquetas (&lt;100.000) asociada a hemoconcentración.</p> <p><b>Caso probable de dengue Grave:</b> Cumple con cualquiera de las manifestaciones graves de dengue que se mencionan a continuación:</p> <p><b>Extravasación severa de plasma:</b> Que conduce a Síndrome de choque por dengue (SCD) o acumulo de líquidos con dificultad respiratoria.</p> <p><b>Hemorragias Severas:</b> Paciente con enfermedad febril aguda, que presenta hemorragias severas con compromiso hemodinámico.</p> <p><b>Daño grave de órganos:</b> Paciente con enfermedad febril aguda y</p>

	que presente signos clínicos o paraclínicos de daño severo de órganos como: miocarditis, encefalitis, hepatitis (transaminasas>1.000), colecistitis alitiásica, insuficiencia renal aguda y afección de otros órganos.
<b>Caso confirmado por laboratorio</b>	Caso probable de dengue, DG, o mortalidad por dengue confirmado por alguno de los criterios de laboratorio para el diagnóstico a través de pruebas serológicas con IgM, IgG de Captura, NS1 y/o carga viral con serotipificación.

## 6. 6 TIPOS DE PROCESAMIENTO REALIZADOS A LAS MUESTRAS

### Pruebas de Diagnóstico Rápido (PRD)

La proteína NS1 es una glicoproteína que se expresa en células infectadas por DENV, ya sea anclada a la membrana o se encuentra en forma soluble, la cual puede ser detectada en el suero del paciente en los primeros días de enfermedad. En la PDR, los antígenos NS1 presentes en el suero del paciente son reconocidos por anticuerpos anti-NS1 acoplados a oro coloidal. Este inmunocomplejo es capturado por los anticuerpos anti-NS1 acoplados a oro coloidal. La acción del buffer permite que este inmunocomplejo interactúe con un segundo anticuerpo policlonal anti-NS1 en la línea de la prueba, lo cual se puede evidenciar mediante la aparición de una línea rosa o púrpura después de un período de 15 minutos. La prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos IgM e IgG, posee un principio similar al de la prueba rápida para la detección de la proteína NS1 (Inmunocromatografía

de flujo lateral), que permite interpretar los resultados a los 15 minutos e indica si un paciente presenta una infección primaria o una infección secundaria. Si los anticuerpos se encuentran presentes en la muestra del paciente, se unen a los anticuerpos anti-IgM o anti-IgG humanas inmovilizados en las líneas IgM e IgG respectivas de la membrana del sistema de cartucho. Posteriormente, los complejos de oro coloidal que contienen los antígenos recombinantes 1 al 4 de DENV se unen a los anticuerpos IgM o IgG del paciente, lo cual se puede identificar por la aparición de una línea color rosa.

Estas pruebas de diagnóstico rápido se han convertido en una herramienta útil para orientar el diagnóstico en los primeros días de enfermedad, especialmente en las instituciones de salud encargadas de la atención inicial de los pacientes.

### **ELISA para la detección de NS1**

Constituye una prueba diagnóstica valiosa para la aplicación en los primeros días de enfermedad (desde el primer día y hasta nueve días después del inicio de la fiebre), la cual permite detectar la proteína NS1 soluble presente en la muestra del paciente. Esta prueba se basa en un ELISA de Captura que consiste en una placa sensibilizada con anti-NS1 a la que se adiciona el suero del paciente y, si este presenta la proteína NS1 de DENV, será reconocida por el anticuerpo. Después de un período de incubación con anticuerpo policlonal de conejo Anti-NS, se adiciona un anticuerpo acoplado a peroxidasa que genera color al entrar en contacto con el sustrato y, posteriormente, se adiciona peróxido de hidrógeno para detener la reacción. Esta ELISA de captura permite detectar el antígeno

viral antes de la producción de anticuerpos IgM y, en el caso que resulte positiva, permite que se realice el manejo y el tratamiento oportuno de los pacientes.

### **ELISA para la detección de IgM e IgG**

La prueba de ELISA IgM (UMELISA) es un micro-Elisa que permite identificar inmunoglobulina IgM específica contra DENV en el suero del paciente. En infecciones primarias los anticuerpos IgM pueden detectarse a partir del día 5 de inicio de los síntomas y permanecer hasta 90 días. En infecciones secundarias, los títulos de anticuerpos IgM son menores comparados con los títulos producidos en una primo-infección por lo que la sensibilidad de la prueba disminuye (34). Esta es la prueba que se utiliza con mayor frecuencia para la confirmación de los casos de dengue en nuestro país, lo cual se realiza en una muestra única tomada al paciente después del quinto día de enfermedad. A pesar de su bajo costo y de su fácil aplicación en los laboratorios de las instituciones de salud, para considerar esta técnica como una prueba confirmatoria de dengue, es necesario tener muestra pareada del paciente tomadas durante la fase febril y la fase convaleciente. Por este motivo esta prueba no permite realizar el diagnóstico en el momento de atención del paciente, y se utiliza como herramienta de vigilancia de la enfermedad.

La detección de IgG específicas del virus dengue se realizó tomando como referencia dos tipos de ELISA. La primera es un ELISA Panbio IgG de captura que permite detectar niveles altos de anticuerpos IgG desde los primeros días de enfermedad, permitiendo de esta forma identificar infecciones secundarias en curso. La segunda prueba, ELISA Panbio

IgG Indirecta, detecta anticuerpos IgG específicos producidos contra cualquiera de los cuatro serotipos del virus, los cuales fueron producidos por el individuo en una infección reciente o pasada. Los resultados de esta prueba sugieren la exposición al virus en algún momento de la vida, denominando a este tipo de casos como “Historia de infección” (35).

Para realizar el diagnóstico y confirmación de los casos de dengue, las pruebas serológicas como ELISA IgM, NS1, e IgG, deben evaluarse en muestras pareadas (obtenidas en la fase febril y en la fase convaleciente) y, posteriormente, los resultados deben analizarse en conjunto con los resultados de las pruebas de diagnóstico virológico, como la detección de RNA de- DENV y el aislamiento viral.

### **Identificación del RNA de DENV- Serotipificación**

Inicialmente, se realiza una extracción de ácidos nucleicos (RNA) a partir de la muestra obtenida del paciente durante la fase febril. Posteriormente se realiza una PCR anidada, que mediante el uso de “*primers*” específicos que reconocen todos los serotipos de DENV, permitiendo la amplificación de un producto de 511 pb. Posteriormente, se realiza una segunda reacción la cual utiliza como base el producto obtenido en la primera amplificación y los “*primers*” específicos para cada uno de los serotipos de virus dengue. El resultado de esta segunda amplificación se analiza mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2%, permitiendo identificar las muestras positivas que presentan banda en un tamaño determinado. La aplicación de esta prueba en los primeros días de enfermedad resulta en un método más sensible y específico que permite realizar la confirmación de los

casos en los primeros días de la infección (en un tiempo óptimo). Sin embargo, el uso de esta técnica se centra en los laboratorios especializados que cuentan con los equipos, infraestructura y personal entrenado.

## **7 PLAN DE ANÁLISIS**

La información fue almacenada en una base de datos electrónica (Microsoft Excel 2010, Microsoft Corp®) mediante doble digitación comparativa. Se realizó un análisis estadístico utilizando Data Analysis and Statistical Software 11 (STATA®). Las diferencias entre la clasificación de dengue según la OMS y los métodos diagnósticos fueron calculadas mediante prueba de *Kruskal-Wallis*. Las escalas de aproximación diagnóstica (*Tuan et al*, *Villar et al*) se evaluaron con la técnica *Kruskal-Wallis* y con el método de *Bonferroni*.

## **8 ASPECTOS ÉTICOS**

Según la resolución 8430 de 1993, el presente estudio se considera un estudio sin riesgo, teniendo en cuenta que se realizó basado en una revisión retrospectiva de historias clínicas de pacientes seleccionados prospectivamente, no se hizo ninguna intervención a los pacientes como parte del protocolo de investigación. Recibió la aprobación por parte del comité de ética del Centro de Investigaciones del Hospital Universitario de La Samaritana. Los datos tomados de las historias clínicas de los pacientes fueron analizados de forma

agrupada, protegiendo la confidencialidad y privacidad de los pacientes. Se tomó el consentimiento informado a los padres o cuidadores y asentimiento informado a los niños que pudiesen firmar, en el momento de la captación del paciente para participar en el estudio.

## 9 RESULTADOS

Durante el período analizado del 1 de marzo al 31 de diciembre del 2014, se registraron un total de 289 pacientes atendidos en el HUS - Unidad Funcional Girardot, municipio de Girardot en el departamento de Cundinamarca, atendidos en su totalidad por presentar SFA menor de 10 días de duración. Las características demográficas se muestran en la Tabla 2.

En los pacientes de casos confirmados con dengue (n=253), la distribución por edad fue del 41.5% (n=105) en el grupo etario de 5 a 9 años; el 28.9% (n=73) entre los 10 a 14 años; el 22.1% (n=56) de 1 a 4 años y en lactantes menores de 1 año se documenta un 7.5% (n=19). Estos resultados mostraron un número importante de casos en cada una de las edades pediátricas, predominando la edad comprendida entre los 5 y 14 años. No se encontraron mayores diferencias respecto al género; sin embargo, en el análisis se observó una mayor frecuencia de enfermedad en niños con un 58.4% (n=148).

Los principales signos y síntomas clínicos presentes en la primera evaluación médica al ingreso del estudio (**Tabla 3**), fueron: dolor osteomuscular 76.1%, dolor abdominal 62.9%, náusea 53.4%, vómito 53.3%, dolor retro ocular 30.3%, fiebre 19.7%, hepatomegalia 14.5%.

**Tabla 3.** Características clínicas al ingreso del estudio

Variable	N*	Diagnóstico				n (%)	p**
		OEF (n=37)	DSSA (n=71)	DSA (n=138)	DG (n=43)		
Fiebre	284	8 (22.2%)	24 (42.9%)	19 (33.9%)	5 (8.9%)	56 (19.7%)	0.003
Dolor retro ocular	211	9 (31.0%)	9 (19.6%)	38 (36.5%)	8 (25.0%)	64 (30.3%)	0.189
Dolor osteomuscular	251	20 (64.5%)	40 (71.4%)	102 (80.9%)	29 (76.3%)	191 (76.1%)	0.193
Nauseas	265	15 (45.4%)	21 (34.4%)	79 (61.2%)	28 (66.7%)	143 (53.4%)	0.001
Vómito	270	16 (48.5%)	23 (36.5%)	77 (58.8%)	28 (65.1%)	144 (53.3%)	0.010
Dolor abdominal	262	11 (36.7%)	11 (18.0%)	111 (85.4%)	32 (78.1%)	165 (62.9%)	<0.001
Dolor a la palpación abdominal	273	6 (18.2%)	2 (3.2%)	101 (74.8%)	30 (71.4%)	139 (51.1%)	<0.001
Hepatomegalia	282	1 (2.8%)	0	22 (16.4%)	18 (42.9%)	41 (14.5%)	<0.001
Alteraciones cardiopulmonar	289	1 (2.7%)	1 (1.4%)	1 (0.7%)	27 (62.8%)	30 (10.4%)	<0.001
Ascitis	284	0	0	7 (5.2%)	22 (52.4%)	29 (10.2%)	<0.001
Edema	288	4 (10.8%)	0	21 (15.2%)	16 (38.1%)	41 (14.2%)	<0.001
Alteraciones Neurológica	288	5 (13.9%)	2 (2.8%)	4 (2.9%)	10 (23.3%)	21 (7.3%)	<0.001
Exantema	287	3 (8.1%)	5 (7.0%)	12 (8.8%)	2 (4.8%)	22 (7.7%)	0.905

N\* Número de sujetos en los cuales estuvo disponible la variable

\*\*Diferencias calculadas mediante prueba de Fisher

Sumado a las características clínicas encontradas al ingreso del estudio, se encontraron en los hallazgos paraclínicos reportados en la **Tabla 4**, valores diferentes y disminuidos de los leucocitos y plaquetas de los casos confirmados de dengue en comparación con OEF, siendo estadísticamente significativos  $p= 0.0304$  y  $p<0.001$  respectivamente en el momento de realizar el diagnóstico. Las unidades Panbio en la ELISA de NS1, en el comparativo entre los casos confirmados de DG, Casos Confirmados de DSA, Casos Confirmados de DSSA y OEF, muestran que los valores no fueron estadísticamente significativos con  $p<0.7625$  entre cada uno de los grupos.

**Tabla 4.** Características de laboratorio de pacientes con dengue y OEF.

Variable	No Caso	Caso dengue			p
	OEF (n=37)	DSSA (n=71)	DSA (n=138)	DG (n=43)	
<b>Leucocitos (<math>10^3/\text{mm}^3</math>)</b>					
Mediana	5.6	4.4	5.0	6.3	0.0304*
RI	4.3 - 9.2	3.4 - 6.7	3.6 - 7.3	4.1 - 8.9	
<b>Plaquetas (<math>10^3/\text{mm}^3</math>)</b>					
Mediana	183	136	101	94.5	<0.001*
RI	121.8 - 239	103 - 195	66.2 - 138	54.6 - 143	
<b>NS1 (Unidades Panbio)**</b>					
Mediana	1.93	4.3	3.3	3.8	0.7625*
RI	1.4 - 5.0	1.98 - 54.0	1.9 - 47.3	1.7 - 54.1	

*DG: dengue Grave. DSA: Casos Confirmados de dengue con Signos de Alarma. DSSA: Casos Confirmados de dengue Sin Signos de Alarma. \*Diferencias calculadas mediante prueba de Kruskal-Wallis. \*\* Esta prueba se realizó para los sujetos positivos para IgM o IgG de captura (OEF:3, DSSA: 38, DSA:108, DG:28).*

Relacionando los valores de leucocitos, plaquetas y NS1 de los pacientes confirmados con dengue según el día de la enfermedad, los hallazgos paraclínicos que se muestran en la **Tabla 5**, y los valores de los leucocitos, con el número de días de la enfermedad (menor o igual a 3 días, de 4 a 6 días y mayor a 7 días), los valores fueron diferentes y estadísticamente significativos  $p= 0.0044$ , observándose mayor leucopenia en los primeros 3 días de la enfermedad. Respecto a los valores de plaquetas se encontró que, al realizar comparación con el mismo intervalo en número de días, los valores fueron diferentes y estadísticamente significativos  $p= <0.001$ , siendo mayor la trombocitopenia entre los 4 a 6 días de la enfermedad. En contraste, con la NS1 se encontró que, al comparar el intervalo en número de días, no se observó diferencia y los valores no fueron estadísticamente significativos  $p= 0.2689$ .

**Tabla 5.** Características de laboratorio de pacientes confirmados con dengue según día de enfermedad

Variable	Días de enfermedad			Valor p
	≤3 días (n=87)	4-6 (n=120)	≥7 (n=68)	
<b>Leucocitos (<math>10^3 \text{ mm}^3</math>)</b>				
Mediana	4.3	4.9	6.7	0.0044*
RI	3.39-6.6	3.9-6.85	3.8-8.7	
<b>Plaquetas (<math>10^3 \text{ mm}^3</math>)</b>				
Mediana	143	103.5	105	<0.001
RI	105-205	66.5-145.5	70.8-164	
<b>NS1(Unidades Panbio)**</b>				
Mediana	3.625	4.33	2.41	0.2689
RI	1.62-58.73	1.86 – 54.03	1.87-39.84	

\*Diferencias calculadas mediante prueba de Kruskal-Wallis.

\*\* Esta prueba se realizó para los sujetos positivos para IgM o IgG de captura (≤3 días: 32, 4-6 días: 84, ≥7: 49).

También se realizó el procesamiento de 287 muestras por RT-PCR, lográndose identificar RNA de DENV en el 48.08%. Se identificaron los cuatro serotipos del virus, DENV-2 fue el serotipo más frecuente (68.21%), seguido por DENV-1 (13.04%), mientras que DENV-3 y DENV-4 se identificaron en el 5.80% y 4.35% respectivamente. En 25 pacientes (8.68%) positivos por RT-PCR se identificó que la infección era producida por dos serotipos.

La evaluación de dos escalas de aproximación diagnóstica de *Tuan et al* y *Díaz-Quijano et al*, se muestra en la **Tabla 6**. El valor de p obtenido en la prueba de Kruskal-Wallis, al evaluar el puntaje de la escala de *Tuan et al*, en cada uno de los grupos de pacientes (OEF, DG, DSA, DSSA) fue estadísticamente significativa (p= <0.001). Se observó la diferencia entre OEF cuando se comparó con cada uno de los grupos de los pacientes. De igual manera se evaluó por esta prueba el puntaje de la escala de *Díaz-Quijano et al*,

obteniéndose un valor de  $p = <0.001$ . Estas dos escalas de aproximación diagnóstica fueron herramientas útiles en el abordaje inicial del paciente con SFA.

**Tabla 6.** Comparación de los grupos de dengue y OEF, según las escalas de aproximación diagnóstica de *Tuan et al* y *Diaz-Quijano et al*.

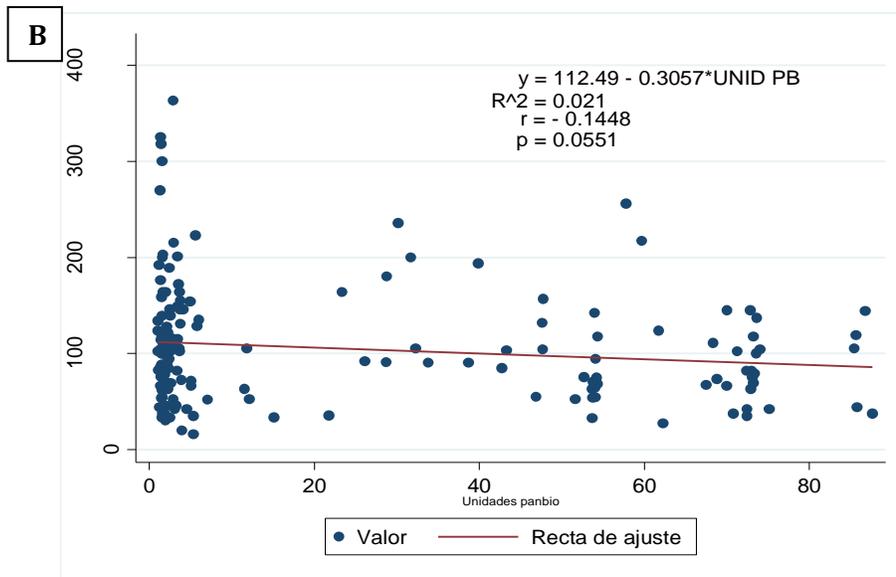
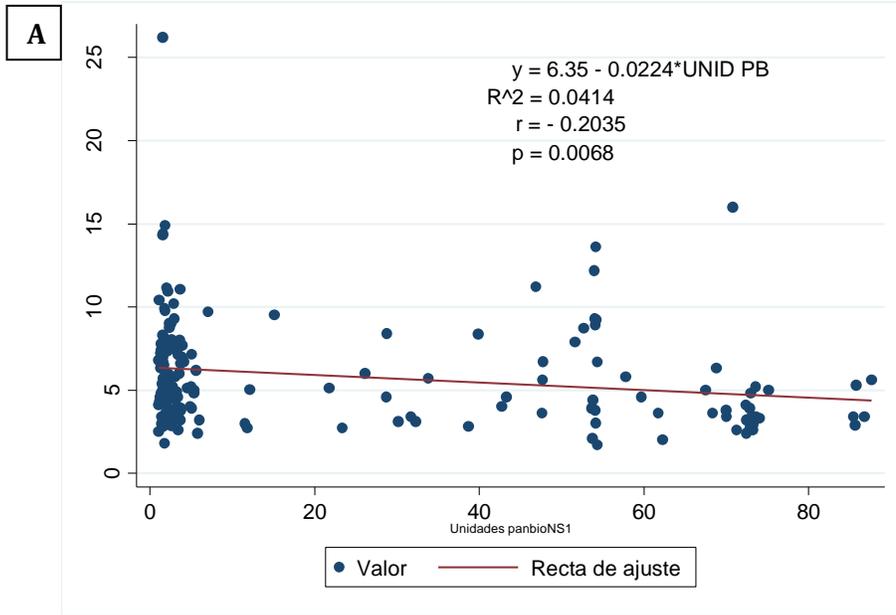
Variable	No Caso	Caso dengue			p
	OEF (n=37)	DSSA (n=71)	DSA (n=138)	DG (n=43)	
<b>Puntaje en la escala de Tuan et al.</b>					
Mediana	40	60	60	55	<0.001*
RI	15 – 50	30 - 70	45 - 72	35 – 70	

*Diferencias calculadas mediante prueba de Kruskal-Wallis*  
*Diferencias calculadas con el método de Bonferroni*  
*OEF vs. DG (p=0.021) OEF vs. DSA (p=0.001\*) OEF vs DSSA (p=0.001)*

<b>Puntaje en la escala de Diaz-Quijano et al.</b>					
Mediana	3	5	5	4	<0.001*
RI	2 – 5	4 – 7	4 - 7	3 – 6	

*Diferencias calculadas mediante prueba de Kruskal-Wallis*  
*Diferencias calculadas con el método de Bonferroni*  
*OEF vs. DG (p=0.073) OEF vs. DSA (p=<0.001\*) OEF vs DSSA (p=0.003)*

Cumpliendo con uno de los objetivos propuestos de evaluar los valores de NS1 con la gravedad de la enfermedad del dengue, se encontró en el análisis de regresión lineal simple en la **Figura 3**, una correlación negativa entre el recuento de leucocitos y el valor de las unidades Panbio en la ELISA de NS1 y, al comparar el recuento de plaquetas con el valor de las unidades Panbio no se encontró correlación. Por lo tanto, en estos resultados no hubo relación entre los niveles de unidades NS1 Panbio ELISA con la gravedad del dengue.



**Figura 3.** Relación de unidades Panbio en la ELISA de NS1 con leucocitos **(A)** y plaquetas **(B)**.

## 10 DISCUSIÓN

El DENV es el arbovirus que más afecta la salud del ser humano en el mundo. Su transmisión es debida principalmente por la picadura del mosquito hembra del *Ae. aegypti* (26). Una de las características más llamativas de las enfermedades transmitidas por vectores es su fuerte estacionalidad conectada a la de los vectores, lo que lleva a una disminución de los casos clínicos durante las estaciones menos favorables para la circulación del mosquito. La transmisión duradera ocurre en áreas donde los vectores afectan a la población humana durante todo el año; durante las bajas temperaturas los insectos vectores alargan el intervalo entre las ingestas de sangre y el período de incubación extrínseca. En esta condición de circulación del vector, los casos clínicos son poco frecuentes y pueden pasar desapercibidos (29). Debido a la ausencia de un tratamiento o vacuna eficaz, es necesario un algoritmo de diagnóstico apropiado que permita detectar la enfermedad rápida y eficazmente (30).

Colombia se encuentra localizada en el extremo noroeste de América del Sur y tiene cerca de 46 millones de habitantes. Su superficie es de 1.141.748 km<sup>2</sup>, y tres ramas de la cordillera de los Andes dominan su topografía. El país se divide en seis regiones geográficas (Costa Atlántica, Costa Pacífica, Centro Oriente, Centro Occidente, Orinoquia y Amazonia), cada uno con condiciones geográficas, climáticas y ambientales distintas (por ejemplo, la altitud, la temperatura, la humedad relativa y características de las lluvias) (9) (31). En Colombia, la distribución del *Ae. aegypti* es generalizada y la enfermedad del

dengue es endémica en casi todo el país con aproximadamente 23 millones de personas consideradas en riesgo de contraer la enfermedad del dengue (7).

Las características clínicas del dengue en pediatría dependen con frecuencia de la edad del paciente; así, lactantes y preescolares pueden sufrir un cuadro febril indiferenciado, con erupción maculo/papulosa mientras que en los adolescentes la duración de la fiebre y el conjunto sintomático son de mayor intensidad, siendo muy difícil diferenciar clínicamente el dengue de otras enfermedades febriles de la niñez y, por lo tanto, las conclusiones clínicas no deben ser dissociadas de la epidemiología de cada región (13) (32).

Estudios realizados en la población pediátrica en diferentes regiones de Colombia, reportan hallazgos similares en las manifestaciones clínicas, así por ejemplo, en el estudio realizado por *Restrepo BN, et al* (2), los síntomas más comunes en los casos de dengue fueron: astenia 96%, anorexia 78%, rinorrea 65,2%, dolor abdominal 56,5%, artralgia 43%, y la prueba de torniquete positiva 13%. En el estudio realizado por *Méndez A, et al* (26), en Bucaramanga, Colombia, durante un período de 10 años (febrero de 1992 a febrero de 2002), en niños menores de 13 años, las principales manifestaciones clínicas fueron: fiebre 100%, manifestaciones hemorrágicas 100%, vómito 60%, dolor abdominal 57%, cefalea 50%, dolor osteomuscular 40,8%, hepatomegalia 33%, y exantemas 29,4%. Entre las manifestaciones hemorrágicas, el 56% correspondió a petequias, 35% a prueba de torniquete positiva, 34% a hemorragias digestivas y 32% a epistaxis; .presentaron derrames serosos el 17,7% de los casos. Entre los signos de alarma para choque se destacó el dolor abdominal intenso. En 52% de los pacientes se encontró leucopenia y en el 37,3% linfocitos

atípicos. Entre otras manifestaciones inusuales se presentaron hepatitis, encefalopatía, colecistitis acalculosa, insuficiencia renal aguda, síndrome hemofagocítico, infecciones sobre agregadas y enfermedades concomitantes. La evolución fue favorable en la mayoría de los pacientes y fallecieron 12 pacientes (1,5%).

En otro estudio descriptivo realizado por *Gómez D, et al (27)*, en pacientes hospitalizados por dengue en el Hospital Infantil Napoleón Franco Pareja de la ciudad de Cartagena, Colombia, en pacientes entre los 6 meses a 16 años, los signos y síntomas más frecuentes fueron: exantema 49,0%, mialgia 35,7%, cefalea 33,7%, artralgia 33,7 %, anorexia 24,5 %, torniquete 19,4%, prurito 11,2%, escalofrío 8,2 %, eritema facial 7,1 % y dolor retro ocular 6,1 %.

En nuestro estudio se evidenciaron signos y síntomas clínicos similares a los reportados en estudios realizados en la población pediátrica de Colombia. Los hallazgos más frecuentemente encontrados en nuestra población fueron: dolor osteomuscular 76,1%, dolor abdominal 62,9%, náusea 53,4%, vómito 53,3%, dolor retro ocular 30,3%, fiebre 19,7%, hepatomegalia 14,5%. El porcentaje bajo de pacientes con fiebre al momento del ingreso, fue debido a que la mayoría de los pacientes se encontraban medicados con antipiréticos.

Las pruebas convencionales para el diagnóstico serológico de dengue son de reducida utilidad para el clínico durante los primeros días de la enfermedad, debido a su baja sensibilidad, su relativa complejidad técnica y el tiempo necesario para su realización. La

identificación temprana de la fiebre del dengue es un pilar para la prevención y la atención oportuna de sus complicaciones, que ocurren usualmente hacia el quinto día de enfermedad (33). Por ello, la demora en su diagnóstico puede tener implicaciones sobre el pronóstico, dado que el inapropiado manejo de estos pacientes en los primeros días puede ser un factor determinante de la aparición de complicaciones potencialmente letales (34).

La detección de la proteína NS1 del virus dengue ha demostrado ser útil como una herramienta para el diagnóstico de infecciones agudas por dengue. Esta se ha detectado en el suero de pacientes infectados con DENV desde el primer día de aparición de los síntomas y hasta 18 días posterior al inicio de los síntomas. El ensayo de antígeno NS1 basado en ELISA está disponible comercialmente para DENV y muchos investigadores han evaluado este ensayo para la sensibilidad y especificidad (35). El ensayo NS1 también puede ser útil para el diagnóstico diferencial entre los flavivirus, debido a la especificidad del ensayo. Aunque la función de la NS1 en la replicación viral no ha sido bien dilucidada, se ha planteado que posee un papel en la replicación temprana y basados en el análisis de mutaciones se ha relacionado con la morfogénesis viral. A su vez, alteraciones de esta proteína afectan la virulencia de la partícula viral (36). En los ensayos desarrollados para la detección de dengue, se cuenta con ELISA de captura para el antígeno NS1 de DENV, el cual reveló que este antígeno es encontrado desde la aparición de los síntomas de los individuos infectados con niveles de hasta 50 µg / ml. Esta prueba ELISA de captura Panbio NS1 para dengue ha demostrado tener una sensibilidad del 60,4 al 66% y una especificidad del 97,9 a 99% (37).

Existe evidencia de que los niveles del antígeno NS1 se asocian con la gravedad de la enfermedad. En el estudio de *Paranavitane et al* (38), se reportó que los niveles de antígeno NS1 mayores de 48 unidades Panbio al momento del ingreso hospitalario se asociaron con una especificidad del 80,25% (73,27% - 86,08%) y una sensibilidad del 41,67% (22,11% - 63,36%) de desarrollar SCD. Este mismo estudio reportó que cuando el antígeno NS1 fue positivo al momento del ingreso, el 64% progresó a SCD en comparación con aquellos que no (47,2%); adicionalmente, su positividad en especial después del día quinto de la enfermedad, se asoció con un mayor riesgo de desarrollar dengue grave (odds ratio 3,0). En nuestro estudio no se encontró relación entre los niveles unidades Panbio en la ELISA de NS1 con la severidad clínica del dengue.

En el estudio de *Duyen et al* (39) reportan que los mayores niveles de antígeno NS1 en el día 3 de la infección se asociaron con recuentos de plaquetas bajos. En el análisis de regresión lineal simple de nuestro estudio, se evidenció que existe una relación significativa entre un menor número de leucocitos y un mayor valor de unidades Panbio para NS1 pero tal asociación no se encontró analizar la variable de número de plaquetas.

Los pacientes con manifestaciones severas de dengue reportan disminución significativa del recuento de leucocitos y plaquetas (42), lo cual se correlaciona en los hallazgos paraclínicos reportados en nuestro estudio, en donde los valores de los leucocitos y plaquetas al compararlas con cada uno de los grupos de pacientes (OEF, DG, DSA, DSSA), son

estadísticamente significativos en leucocitos ( $p= 0.0304$ ) y plaquetas ( $p<0.001$ ) respectivamente; además se observó que los pacientes con manifestaciones graves de dengue, presentaron disminución significativa en el recuento de plaquetas.

La identificación de los serotipos circulantes en el país muestra un aumento en la circulación del serotipo 1 y una disminución del serotipo 3, circulando los cuatro serotipos simultáneamente (2). En nuestro estudio se identificaron los cuatro serotipos del virus en la población de niños en Girardot, siendo DENV-2 el serotipo más frecuente 68,21%, seguido por DENV-1 en el 13,04%, mientras que DENV-3 y DEN-4 se identificaron en el 5,80% y 4,35% respectivamente. En el 8.68% de las muestras positivas por RT-PCR se identificó que la infección era producida por dos serotipos.

En el estudio prospectivo multicéntrico en el sur de Vietnam, entre el período 2010-2012 realizado por *Tuan et al* (24), se incluyeron 5729 niños menores de 15 años con fiebre de menos de 72 horas de evolución. Este estudio propuso la utilización de una escala de aproximación diagnóstica, en donde se utiliza la edad del paciente, recuento de leucocitos y plaquetas para discriminar los casos de dengue de los pacientes con SFA que no corresponden a dengue. Esta escala tuvo una sensibilidad del 74,8% (IC 95%: 73,0-76,8%) y una especificidad del 76,3% (IC 95%: 75,2-77,6%) para el diagnóstico de dengue. Si se adiciona una prueba adyuvante como las pruebas rápidas NS1, la sensibilidad de la prueba global fue de 91,6% (IC 95%: 90,4-92,9%). Cuando se aplicó la escala de aproximación diagnóstica de *Tuan et al* (24), en los pacientes con cualquier tiempo de evolución, el valor

que arroja la escala para cada grupo de severidad se relacionó positivamente con cada grupo de severidad ( $p < 0.001$ , test de *Kruskal-Wallis*), siendo mayor el valor en los grupos de mayor severidad, lo cual indica que las variables incluidas en ese nomograma pueden predecir con relativa alta sensibilidad un diagnóstico de dengue, por lo cual se podría recomendar su utilización en nuestro medio.

En el estudio realizado en Bucaramanga por *Díaz-Quijano et al* (21), en una cohorte de individuos adolescentes y adultos (mayores de 12 años) con SFA sin causa aparente, compuesta por 125 casos de dengue (confirmados serológicamente o virológicamente) y 126 de síndrome febril de otra etiología, se determinaron las manifestaciones clínicas tempranas (en los primeros cuatro días de la enfermedad) asociadas al dengue y con ellas se formularon y evaluaron diversas combinaciones diagnósticas. La escala de aproximación diagnóstica que este estudio propone, incluye la evaluación de: exantema, prueba de torniquete positiva, ausencia de rinorrea, artralgias, ausencia de diarrea (1 punto por cada hallazgo), recuentos de leucocitos  $< 4.000/mm^3$ , (3 puntos) y plaquetas  $< 180.000/mm^3$  (2 puntos). Resultados  $\geq 3$  puntos tuvieron una sensibilidad de 95,2%, una especificidad de 27,8%, un valor diagnóstico positivo de 56,7%, un valor diagnóstico negativo de 85,4%. Resultados  $\geq 6$  puntos mostraron una sensibilidad de 70,4%, una especificidad de 78,6%, un valor diagnóstico positivo de 76,5%, un valor diagnóstico negativo de 72,8%. Resultados  $\geq 8$  puntos evidenciaron una sensibilidad de 42,4%, una especificidad de 96%, un valor diagnóstico positivo de 91,4%, un valor diagnóstico negativo de 62,7%. Finalmente, con valores de 9 o 10 puntos, la especificidad y el valor diagnóstico positivo fueron de 100%.

En nuestro estudio, cuando aplicamos la escala de aproximación diagnóstica de *Díaz-Quijano et al* (21), a todos los pacientes incluidos, los valores hallados fueron significativamente más altos en los casos confirmados de dengue con respecto a los febriles no dengue ( $p < 0.001$ ), por lo que se demuestra su utilidad y permite proponer también su uso para la predicción clínica de un diagnóstico de dengue.

La utilización de escalas de aproximación diagnóstica de *Tuan et al* (24) y *Díaz-Quijano et al* (21), se podrían considerar herramientas útiles para el diagnóstico temprano de dengue en Pediatría en áreas endémicas. Se hace necesario el desarrollo de escalas de aproximación diagnóstica en la población pediátrica y su validación en diferentes poblaciones de pacientes, determinando su reproducibilidad y evaluando su aceptación por parte de los profesionales de la salud con el potencial efecto de esta escala de puntuación sobre la práctica médica

En resumen, en nuestro estudio en donde el uso de un algoritmo de pruebas de laboratorio permitió confirmar el 85% de los casos de dengue y que también nos permitió describir de manera muy amplia las características clínicas del dengue en los niños de esta zona del país, identificó que tales signos dependerán de la edad del paciente, pero particularmente de diagnóstico clínico realizado al agrupar las características en cada grupo (sin signos, con signos de alarma o dengue grave).

En este estudio, los principales signos clínicos y síntomas al ingreso fueron: dolor musculoesquelético, dolor abdominal, náuseas, vómitos, dolor retro-ocular, fiebre, hepatomegalia, epistaxis, erupción cutánea y sangrado de las encías. Los pacientes con manifestaciones graves de dengue, reportaron disminución significativa en el recuento de plaquetas. No se detectó relación entre los niveles de unidades NS1 Panbio ELISA con la severidad clínica del dengue. El DENV-2 fue el serotipo más frecuente, seguido de DENV-1.

El uso de escalas clínicas, puede favorecer una mayor exactitud en el diagnóstico, pero se requiere adaptarlas a las características cambiantes de la presentación clínica en cada región del país, aunque al parecer son una herramienta útil para el diagnóstico clínico de dengue en pediatría. Se requieren más estudios para describir las características clínicas de dengue en la población pediátrica de Colombia y fortalecer los procedimientos de confirmación de casos por el laboratorio.

## **11 CONCLUSIONES**

- En nuestro estudio el uso de un algoritmo de pruebas de laboratorio, permitió confirmar el 85% de los casos de dengue.
- Los casos de dengue en la zona de estudio se presentaron en niños de todos los grupos etarios, sin embargo, fue más frecuente en los niños de 5 a 14 años.
- Las manifestaciones clínicas principales en los casos de dengue en niños fueron: dolor musculoesquelético, dolor abdominal, náuseas, vómitos, dolor retro-ocular, fiebre, hepatomegalia, epistaxis, erupción cutánea y sangrado de las encías.

- Los casos de dengue consultaron principalmente entre el cuarto y sexto día desde el inicio de los síntomas clínicos.
- Los pacientes con manifestaciones graves de dengue, reportaron disminución significativa en el recuento de plaquetas.
- En nuestro estudio no se encontró relación entre los niveles unidades Panbio de la ELISA de NS1 con la severidad clínica del dengue.
- La utilización de escalas de aproximación diagnóstica de *Tuan et al* (24) y *Díaz-Quijano et al* (21), fueron herramientas útiles para el diagnóstico temprano de dengue en la población pediátrica de estudio.
- En la zona de estudio circularon los 4 serotipos del virus, sin embargo, el más frecuente fue el DENV-2.
- Se requieren más estudios para describir las características clínicas de dengue en la población pediátrica de Colombia.

## 12. REFERENCIAS

1. Padilla J, Rojas D, Saenz R. Dengue en Colombia: Epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia [Internet]. 2012. p. 1–281. Available from: [http://www.academia.edu/7533149/Dengue\\_en\\_Colombia\\_epidemiología\\_de\\_la\\_reemergencia\\_a\\_la\\_hiperendemia](http://www.academia.edu/7533149/Dengue_en_Colombia_epidemiología_de_la_reemergencia_a_la_hiperendemia)
2. Restrepo BN, Piedrahita LD, Agudelo IY, Parra-Henao G, Osorio JE. Frequency and clinical features of dengue infection in a schoolchildren cohort from Medellín, Colombia. *J Trop Med* [Internet]. 2012;2012:120496. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3530854&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
3. Protocolo para la Vigilancia en Salud Pública del Dengue. Ministerio de la Protección Social. República de Colombia. [Internet]. 2010 [cited 2015 Sep 21]. p. 24. Available from: [https://www.minsalud.gov.co/Documentos\\_y\\_Publicaciones/Guía\\_de\\_atención\\_clínica\\_integral\\_del\\_paciente\\_con\\_Dengue\\_2010\\_y\\_Anexo\\_pediátrico.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Documentos_y_Publicaciones/Guía_de_atención_clínica_integral_del_paciente_con_Dengue_2010_y_Anexo_pediátrico.pdf)
4. Villar LA, Rojas DP, Besada-Lombana S, Sarti E. Epidemiological Trends of Dengue Disease in Colombia (2000-2011): A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015;9(3):e0003499. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003499>
5. Castellanos J, Bello J, Velandia-Romero M. Manifestaciones neurológicas durante la infección por el virus del dengue. *Infectio* [Internet]. 2014;18(4). Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939214000101>
6. Vancini R, Kramer LD, Ribeiro M, Hernandez R, Brown D. Flavivirus infection from mosquitoes in vitro reveals cell entry at the plasma membrane. *Virology* [Internet]. Elsevier; 2013;435(2):406–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2012.10.013>
7. Rodríguez H, de la Hoz F, Rodríguez H. Dengue and dengue and vector behaviour in Caqueza, Colombia, 2004. *Rev Salud Publica (Bogota)* [Internet]. 2005;7(1):1–15. Available from: <http://www.scielosp.org/pdf/rsap/v7n1/v7n1a1.pdf> \n <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15906499>
8. Dengue. Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control [Internet]. OMS y programa especial para investigación y capacitación de enfermedades tropicales. 2009 [cited 2015 Sep 21]. p. 113–5. Available from: [http://www.bvsde.paho.org/cursoa\\_dengue/e/pdf/dengue\\_oms\\_2009.pdf](http://www.bvsde.paho.org/cursoa_dengue/e/pdf/dengue_oms_2009.pdf)
9. Organización Panamericana de la Salud. Dengue: Guías de atención para enfermos en la región de las Américas [Internet]. 2010. 56 p. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=11239&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=11239&Itemid)
10. Díaz FA, Martínez RA, Villar LA. Criterios clínicos para diagnosticar el dengue en los primeros días de enfermedad. *Biomédica*. 2006;3(Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga,):22–30.

11. Hang VT, Nguyet NM, Trung DT, Tricou V, Yoksan S, Dung NM, et al. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(1):1–7.
12. Kosasih H, Alisjahbana B, Widjaja S, Nurhayati, De Mast Q, Parwati I, et al. The diagnostic and prognostic value of dengue non-structural 1 antigen detection in a hyper-endemic region in Indonesia. *PLoS One*. 2013;8(11):1–7.
13. Velandia ML, Castellanos JE. Virus del dengue: estructura y ciclo viral Dengue virus. *Infectio*. 2011;15(571):33–43.
14. Allonso D, Meneses MDF, Fernandes C a., Ferreira DF, Mohana-Borges R. Assessing Positivity and Circulating Levels of NS1 in Samples from a 2012 Dengue Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(11):e113634. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0113634>
15. Amorim JH, Alves RPDS, Boscardin SB, Ferreira LCDS. The dengue virus non-structural 1 protein: Risks and benefits. *Virus Res* [Internet]. Elsevier B.V.; 2014;181:53–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2014.01.001>
16. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Contenido Notificación [Internet]. Semana epidemiológica número 46 de 2015 (15 nov. al 21 nov.). 2015. Available from: [http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn Epidemiolgico/2015 Boletn epidemiologico semana 46.pdf](http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2015%20Boletn%20epidemiologico%20semana%2046.pdf)
17. Organization WH. New edition 2009. *Prev Control* [Internet]. 2009;409(3):160. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871_eng.pdf)
18. Lin CC, Huang YH, Shu PY, Wu HS, Lin YS, Yeh TM, et al. Characteristic of dengue disease in Taiwan: 2002–2007. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;82(4):731–9.
19. Córdoba CB, Blanco AR, Sebastián J, Henain M. DENGUE EN PEDIATRIA : Revisión. *Rev Posgrado la VIa Cátedra Med*. 2007;168(1).
20. Docente P, Martí J, Nélica D, Hechavarría O, Inés D, Portuondo MD, et al. Incidencia de dengue en niños y adolescentes. *REV Cuba MED TROP*. 2001;53(1):16–9.
21. Sáez-Llorens X. Persistente presencia de dengue en el trópico. *An Pediatría*. 2006;64(6):515–6.
22. Martínez-Vega RA. Dificultad para el diagnóstico clínico temprano del dengue en un área endémica y su impacto sobre el manejo médico inicial. *Rev Med Chil*. 2006;1153–60.
23. Caballero MEV, Portuondo TMA, Serrano HP. Características clínicas de la fiebre de dengue en niños durante el brote epidémico en Santiago de Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2001;53(1):20–3.
24. Díaz-Quijano FA, Martínez-Vega RA, Villar-Centeno LÁ. Indicadores tempranos de gravedad en el dengue. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005;23(9):529–32.

25. Arboleda M, Campuzano M, Restrepo BN, Cartagena G. Caracterización clínica de los casos de dengue hospitalizados en la E.S.E. Hospital “Antonio Roldán Betancur”, Apartadó, Antioquia, Colombia, 2000. *Biomédica Rev del Inst Nac Salud* [Internet]. 2006;26(2):286–94. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-33749267251&partnerID=tZOtx3y1>
26. Méndez Á, González G. Dengue hemorrágico en niños: diez años de experiencia clínica. *Biomédica*. 2003;23(2):180–93.
27. Marrugo DG, Garcés CC, Redondo HP, Causado AS, Pretell CM. Caracterización clínica del dengue en un hospital infantil de Cartagena ( Colombia ) Clinical characterization of dengue in a children ’ s hospital of Cartagena ( Colombia ). 2014;30:281–92.
28. Alvis-Guzman N, Rodríguez-Barreto H, Mattar-Velilla S. Colombia Médica Dengue in an area of the Colombian Caribbean , 2003 – 2010. *Colomb Med*. 2015;46:3–7.
29. Méndez Á, González G. Manifestaciones clínicas inusuales del dengue hemorrágico en niños. *Biomedica*. 2006;49(26):61–70.
30. Salgado DM, Castro D. Mortalidad por dengue hemorrágico en niños en Colombia : más allá del choque Dengue hemorrhagic fever mortality Materiales y métodos Se realizó un estudio descriptivo con recolección retrospectiva. *Asoc Colomb Infectología*. 2008;12(1):21–7.
31. Tuan NM, Nhan HT, Chau NVV, Hung NT, Tuan HM, Tram T Van, et al. Sensitivity and Specificity of a Novel Classifier for the Early Diagnosis of Dengue. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015;9(4):e0003638. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003638>
32. Castellanos JE, Coronel-Ruiz C. Dengue disease diagnosis : A puzzle to be solved. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb*. 2014;62(4):455–64.
33. Organización Mundial de la Salud. Preguntas y respuestas sobre las vacunas contra el dengue : estudio de fase III de la vacuna CYD-TDV en América Latina [Internet]. 2014 [cited 2015 Sep 23]. p. 7–8. Available from: [http://www.who.int/immunization/research/development/ES\\_QA\\_dengue\\_vaccine\\_LatAm\\_nov14.pdf](http://www.who.int/immunization/research/development/ES_QA_dengue_vaccine_LatAm_nov14.pdf)
34. Hunsperger E a., Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria D a., et al. Evaluation of Commercially Available Diagnostic Tests for the Detection of Dengue Virus NS1 Antigen and Anti-Dengue Virus IgM Antibody. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2014;8(10):e3171. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003171>
35. Huang CH, Kuo LL, Yang KD, Lin PS, Lu PL, Lin CC, et al. Laboratory diagnostics of dengue fever: An emphasis on the role of commercial dengue virus nonstructural protein 1 antigen rapid test. *J Microbiol Immunol Infect* [Internet]. Elsevier Taiwan LLC; 2013;46(5):358–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2012.07.011>