UNNOBA
UNIVERSIDAD NACIONAL
NOROESTE | BUENOS AIRES

Maestría en Prevención y Control de las Zoonosis

"Predictores clínicos tempranos para dengue y su diferenciación con otros síndromes febriles agudos (OSFA)"

Autor: Md. Esp en Enfermedades Infecciosas (UBA) Agustín Pablo Seijo

Directora de tesis: Md. Esp. en Enfermedades Infecciosas Sofía E. Echazarreta

Septiembre 2022

Dedicatoria

A mi padre, Alfredo C. Seijo, quien fue el constructor de muchas ideas que desde chico generaron en mí una curiosidad por la ciencia e inquietud por el bienestar del ser humano.

Agradecimientos

A la Dra. Marina Khoury, quien no sólo se encargó con sus clases de convertir lo difícil en fácil, sino que también tuvo la difícil tarea de guiarnos en el campo de la metodología de la investigación de una manera grata y comprensible, y colaboró directamente con los resultados de esta tesis de manera desinteresada, por lo que estoy infinitamente agradecido.

Laura Riera, Directora de la Maestría y profesora, es el alma de la misma, se encargó de llevarla adelante en momentos de cambios, muy difíciles, manteniendo el profesionalismo y la excelencia con la cual fue pensada. Laura se encargó de que cada uno de nosotros llegásemos a buen puerto con nuestros proyectos, unificó nuestra cohorte siendo en muchos casos más que una directora, acompañando en lo académico, pero también en lo personal.

A la Dra. Delia Enría por quien siento respeto profesional por toda su trayectoria y admiración por lo logrado, además la fortuna de gozar de un cariño "heredado "que pone en evidencia el afecto que se tenían con mi padre.

Infinitas gracias a Sofía Echazarreta que desde la residencia viene corrigiendo y sufriendo con mis trabajos de manera desinteresada, siempre muy aguda en sus observaciones y con una vocación enorme por lo que hace. Es una tranquilidad tenerla.

A los integrantes del Laboratorio de Zoonosis Hospital Muñiz que con su esfuerzo hicieron posible este trabajo: Gladys, Sergio, Beatriz, Betina y Johana, personas con las que trabajamos codo a codo en el brote de Dengue del 2016 y en muchos otros proyectos ricos en aprendizajes

Mi reconocimiento a mis colegas médicos y no médicos del HFJM, que son tantos que es un error singularizar, pero el esfuerzo grupal de todos ha demostrado una vez más ser superior a todas las dificultadas y desafíos que tenemos en el campo de la infectología.

También las gracias a mi familia, que siempre me acompaña en todas las aventuras que me propongo, su esfuerzo, consejos y compañía fueron fundamentales en los modestos logros

Mi gratitud a los compañeros de cohorte, principalmente a Anita, Patricio y Paolo con los que compartimos viajes, mates y nos hicimos solidaria compañía para a llegar a la meta.

Índice.

Abreviaturas……1

Introducción……..3

El virus……4

Fisiopatología e inmunidad……7

El vector……..10

Epidemiologia……..14

Manifestaciones Clínicas……22

Esquemas de clasificación del dengue……..27

Diagnostico……29

Diagnostico Diferencial……33

Tratamiento……..37

Justificación……. 40

Objetivos……41

Materiales y Métodos……42

Resultados……45

Discusión ……..54

Limitaciones……70

Conclusiones……71

Bibliografía ……..72

1. Abreviaturas

ACV Accidente cerebro vascular

AMBA: Área Metropolitana de Buenos Aires

APS: primer nivel de atención

CABA: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

CHIKV: virus chickungunya

CID: coagulación intravascular diseminada

CDC: Centro de Control de enfermedades (USA)

DSA: dengue sin signos de alarma

DCA: dengue con signos de alarma

DDT: diclorodifeniltricloroetano

DENV: virus dengue

DG: dengue grave

DRO: Dolor retroocular

DSA: dengue sin signos de alarma

EEE: encefalitis equina del Este

EEO: encefalitis equina del Oeste

EJV: encefalitis Japonesa Virus

FA: fiebre Amarilla

FD: fiebre por dengue

FHD: fiebre hemorrágica por dengue

G-DENV: grupo dengue

G-OSFA: grupo otros síndromes febriles agudos.

G6PD: glucosa 6 fosfato deshidrogenasa

IGG: inmunoglobulina G

IGM: inmunoglobulina M

MDA5: proteína asociada a la diferenciación de melanomas helicasa

MSAL: Ministerio de Salud de la Nación Argentina

NASBA: **amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos**

NEA: Noreste Argentino

NOA: Noroeste Argentino

NS-1: antígeno de proteína no estructural

OMS: Organización Mundial de la Salud

OSFA: otros síndrome febriles agudos.

PNRT: test de neutralización por reducción en placas

RIG-1: gen inducido por ácido retinoico

RNA: ácido ribonucleico

RSI: reglamento sanitario internacional

RT-PCR: reacción en cadena reversa de la polimerasa

SA: signos de alarma

SCPH: síndrome cardiopulmonar por hantavirus

SE: semana epidemiológica

SFA: síndrome febril agudo

SHSR: síndrome hemorrágico- renal por hantavirus

SSD: síndrome de shock por dengue

TGO: glutamato transaminasa

TGP: aspartato transaminasa

Tnf-alfa: factor de necrosis tumoral

TRL: recepto toll like

UFP: unidad formadora de placa

VNO: virus del Nilo Occidental

ZIKV: virus Zika

2.*Introducción*

El dengue es una arbovirosis transmitida principalmente por el mosquito *Aedes Aegypti* y compuesta por cuatro serotipos (DENV-1 a 4) entre los cuales no se presenta inmunidad cruzada. Ampliamente distribuido a nivel mundial, es un problema de salud global con más de cien países en situación de endemicidad y varios países en situación de hiperendemicidad. Se estima que el dengue produce unas 40 millones de infecciones sintomáticas de las cuales alrededor de dos millones requieren hospitalización(1)(2).

El espectro clínico del dengue varía desde un síndrome febril agudo inespecífico a cuadros graves que pueden poner en riesgo la vida del paciente). Típicamente la enfermedad se presenta como un cuadro febril autolimitado, caracterizado por cefalea, dolor retroocular, mioartralgias, síntomas gastrointestinales y rash. Sus dos síndromes clínicos mas importantes la fiebre por dengue (FD) y el dengue hemorrágico (FHD), fueron descritos por primera vez hace mas de 50 años en Tailandia. En la actualidad el nuevo esquema propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica la enfermedad de manera más simple en dengue (FD) y dengue grave (DG), lo que facilita el triage de los pacientes mejorando la sensibilidad de detección de casos graves.

La presentación clínica del dengue etapas tempranas de la enfermedad (primeras 72hs) suele ser difícil de distinguir de otras causas de síndromes febriles agudos (OSFA). Además, en la mayoría de los países donde el dengue es endémico también lo son enfermedades como leptospirosis, rickettsiosis, fiebre tifoidea y otras arbovirosis, las cuales tienen una presentación clínica inicial similar. Poder arribar a un diagnóstico sin la utilización de exámenes complementarios de laboratorio que confirmen la enfermedad por dengue representa un desafío frecuente en el primer nivel de atención, ya que en muchos de ellos no cuentan con exámenes de laboratorio disponibles. Mas aún, la aparición del Sars-Cov-2 desde diciembre del 2019 como causa de Síndrome Febril Agudo (SFA) complejiza más los diagnósticos diferenciales, presentando implicancias en el manejo de los pacientes sospechosos, los cuales deben ser correctamente clasificados en el triage de urgencias y derivados a áreas especiales para así evitar casos secundarios.

En vista de la variabilidad en la presentación clínica del dengue, se considera deseable la confirmación diagnóstica por medio de pruebas de laboratorio, la cual se establece durante la viremia por RT PCR, detección antígeno NS-1 o aislamiento viral, mientras que la serología se utiliza a partir del quinto día de enfermedad para detectar IgM y se debe confirmar con seroconversión de muestras pareadas. Pese a las herramientas diagnósticas con las que se cuenta en la actualidad, el dengue es una de las enfermedades tropicales más subdiagnosticadas a nivel mundial(3). Para muchos países endémicos ésta no es una opción factible, por lo que se necesitan estrategias simples y económicas que se basen en parámetros clínico-laboratoriales fácilmente disponibles para proporcionar un diagnóstico temprano confiable.

Si bien no hay un tratamiento específico, el diagnóstico temprano de la enfermedad y el soporte médico con la correcta hidratación disminuyen la mortalidad a menos del 1% (4) Sin embargo este número no dimensiona el verdadero problema de la enfermedad por la gran cantidad de casos subdiagnosticados. Más aún, los pacientes que llegan a la etapa

crítica de la enfermedad (DG) sin un diagnóstico y tratamiento adecuados pueden tener una letalidad del 30 al 50%(1).

El objetivo del siguiente trabajo es analizar variables clínicas y de laboratorio que nos ayuden a construir un **score de diagnóstico temprano** de dengue que sea sensible, específico y que pueda ser aplicado en el primer nivel de atención con el objetivo de poder brindar un abordaje terapéutico precoz y adecuado que disminuya la morbimortalidad.

3. *El virus*

Eldengue es un virus proveniente de la familia *Flaviviridae (flavus: amarillo*) una amplia familia de más de setenta virus patogénicos para diferentes especies de mamíferos. El nombre de la familia se debe a su virus prototipo, el virus de la Fiebre Amarilla, que fue descripto clínicamente alrededor del año 1600. A los flavivirus se los puede dividir según su forma de transmisión en dos grandes grupos: aquellos flavivirus transmitidos por mosquitos y los transmitidos por garrapatas. La distribución de estos virus varía según el vector y el ciclo biológico, en algunos casos, como el dengue y el Zika, la distribución extendida del vector y la migración de los pacientes en período de viremia permite una amplia distribución de la enfermedad, mientras que en el caso de las enfermedades transmitidas por garrapatas el ciclo biológico del virus depende estrechamente de la relación entre el vector (la garrapata) y sus huéspedes amplificadores (mamíferos) y accidentales (humanos). En la **Figura-2** se observa la distribución mundial de los flavivirus de importancia en la salud pública.

Todos los flavivirus son virus envueltos RNA+ de 10 -11 kb de tamaño. El RNA se traduce a través de un único marco de lectura (ORF) en tres proteínas estructurales (C, prM, E) y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) éstas juegan un rol principal en la entrada, procesamiento y replicación viral como veremos en el apartado de fisiopatología e inmunidad **Figura-1**(5).

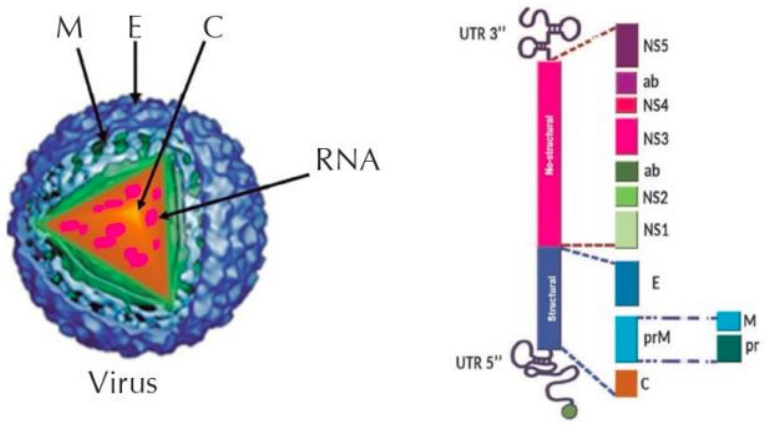


Figura-1: Estructura molecular del virus del dengue. Modificado de: Angel RMd, Valle JR-d. Dengue Vaccines: Strongly Sought but Not a Reality Just Yet. PLoSPathog. 2013;9(10):e1003551.

El dengue se clasifica en cuatro serotipos compartiendo solo un 75% de la totalidad de sus genes. Los virus del mismo serotipo tienen una diversidad genética aproximadamente

del 3%. A nivel de sus nucleótidos dicha diversidad es de un 6%, esto permite subclasificar los serotipos en diferentes clados. Las variaciones genéticas entre clados pueden ser lo suficientemente importantes como para generar cambios en el *fitness* viral optimizando la replicación tanto en mosquitos como en humanos, también pueden aumentar la virulencia, o influir en la respuesta inmunológica lo que se traduce en un incremento en la gravedad de la enfermedad (6). Por otro lado, es importante considerar el papel de la diversidad genómica intra-hospedero, es decir los diferentes clados genéticos con los que simultáneamente se infecta una persona: recientes estudios arrojan resultados diversos y poco concluyentes en cuanto al papel de la biodiversidad genética intra-hospedero y su relación con la enfermedad por dengue, por lo que el rol que juega en cuanto a la gravedad de la enfermedad esta aún siendo estudiado(7)(8).

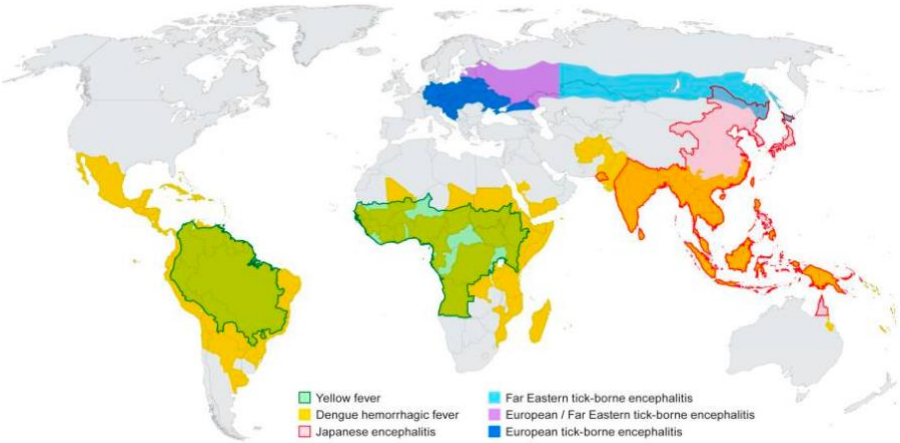


Figura-2: Como podemos observar en las enfermedades transmitidas por mosquitos la mayor incidencia se da entre las zonas de los trópicos en países de climas tropicales a templados y subtropicales. Las encefalitis transmitidas por garrapatas, por el contrario, tienen una distribución más focalizada en áreas con climas fríos, principalmente en el Norte de Europa, Rusia y China.

3-a Serotipos, genotipos y linajes de DENV

Como se menciono anteriormente el DENV se puede clasificar en cuatro serotipos distintos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4) que comparten aproximadamente un 65-70% de similitud en la secuencia de aminoácidos. A su vez, cada serotipo incluye varios genotipos. Un **genotipo** se define como un grupo de DENV que no tienen más del 6% de divergencia en la secuencia de nucleótidos(9). La distribución geográfica de los diferentes genotipos se representa en la **Tabla-1**.

Para entender el impacto de estas variaciones genéticas en la enfermedad podemos tomar como ejemplo al genotipo americano de DENV-2, el cual se replica con una eficiencia reducida en *Ae. aegypti* en comparación con el genotipo asiático y, por tanto, es menos transmisible(10) . El genotipo americano DENV también se asocia con cepas menos virulentas. Según el análisis filogenético de las secuencias del gen E, cada genotipo puede subdividirse en varios **linajes** (11). Curiosamente, el número de nuevos linajes está creciendo en la actualidad lo que complejiza la comprensión del impacto que pudieran causar estos cambios genéticos a nivel epidemiológico (12).

Además, en una determinada región geográfica, un genotipo o linaje particular podría emerger y persistir durante varios años y luego extinguirse y ser reemplazado por un

genotipo o linaje completamente nuevo. El cambio de linaje puede deberse a un proceso estocástico o puede surgir debido a variaciones en la aptitud propias del DENV(13). Esta situación se ha observado frecuentemente para todos los serotipos: se identificaron reemplazos en virus endémicos DENV-1 en Tailandia a principios de la década de 2000, para DENV-2 en Vietnam a principios de la década de 2000 (14), y en América a principios de la década de 1990 (15). El Linaje DENV-3 también ha sufrido reemplazos en Tailandia (16). Como mencionamos anteriormente la introducción de un nuevo linaje viral puede llevar a un aumento de la morbimortalidad en una región específica. En un estudio que identificó un nuevo linaje de DENV-3 en el Este de la India, concluyó que este linaje esta asociado con un aumento incidencia grave de dengue (8). El aumento de la incidencia de casos de dengue grave con la introducción de nuevos genotipos en una área geográfica determina fue observado en los cinco continentes (8) (9). Por ejemplo, la introducción del genotipo asiático / americano DENV-2 en el Caribe en 1981 se asoció con tasas más altas de la forma grave del dengue (11). El reemplazo del genotipo asiático/americano DENV-2 por el genotipo asiático 1 del DENV-2 en Vietnam se atribuyó a niveles más altos de viremia en los pacientes (10). Un estudio en Perú encontró que el linaje II del genotipo asiático / americano DENV-2 se asoció con un brote de dengue entre el 2010 y 2011. Este linaje era genéticamente distinto del linaje I del genotipo asiático / americano DENV-2 que había circulado previamente en dicha región(17).

Los estudios de epidemiología molecular permiten rastrear y monitorear el movimiento de genotipos o linajes particulares entre regiones

Dicho monitoreo es de vital importancia para el correcto análisis y evaluación del riesgo epidemiológico en el cual se encuentra un país (18).

Tala-1 Genotipos de Dengue y su zona geográfica de aislamiento

DENV-1	I	Strains from Southeast Asia, China and East Africa
	II	Strains from Thailand (between 1950s and 1960s)
	III	Sylvatic strain collected in Malaysia and Malaysian strain 36,046 (2005)
	IV	Strains from the West Pacific islands and Australia
	V	Strains collected in the Americas, West Africa, and some strains from Asia
DENV-2	Asiático I	Tailandia y Malasia
	Asiático II	China, Vietnam, Taiwán, Sri Lanka, Filipinas
	Cosmopolita	Australia, África, Islas del Indico, India, Medio Oriente
	Americano	América Latina, Caribe, Islas del Pacifico
	Americano/asiático	Cepas de Tailandia y Vietnam aisladas en América
	Selvático	
DENV-3	I	Cepas provenientes de humanos, mosquitos selváticos o primates de regiones selváticas al Oeste de áfrica y
	II	Sudeste Asiático Indonesia, Malasia, Filipinas e islas del pacifico sur Tailandia, Vietnam y Bangladesh
	III	Sri Lanka, India, África, Samoa, Tailandia
	IV	Puerto Rico, Centro América, Latinoamérica

DENV-4	I	Tailandia, Filipinas, Sri Lanka, Japón
	II	Indonesia, Malasia, Tahití, Caribe
	III	Grupo heterogéneo de cepas no clasificadas
	Selvático	Cepas selváticas de Malasia

4. *Fisiopatología e Inmunidad*

Después de la picadura de un mosquito infectante el virus se replica en los nódulos linfáticos de la piel y en 2 a 3 días se disemina hacia otros tejidos por vía sanguínea. En la gran mayoría de los casos el virus circula en el plasma y en monocitos infectados durante 4 a 7 días, esto se denomina fase virémica y es el momento cuando la inmunidad innata se desarrolla. En esta etapa el virus presenta diferentes mecanismos para evitar las vías de señalización intra y extracelulares que le permitirán a la inmunidad innata reconocer al virus y eliminarlo. Aproximadamente en el quinto día de enfermedad, la inmunidad adaptativa comienza a generar anticuerpos dirigidos hacia diferentes epítopes virales los cuales junto a la inmunidad celular T, a través de sus linfocitos TCD8+, lograrán el control de la enfermedad en el mejor de los escenarios. Es en el momento, denominado fase crítica, donde se monta la inmunidad adaptativa f, en la cual una respuesta inmune adecuada puede lograr contener al virus, o bien una respuesta inmune no efectiva o exacerbada por mecanismo inumunomediados (vasculitis, extravasación plasmática, etc.) llevará al paciente al DG y a sus complicaciones más temibles.

4-a La respuesta inmune innata y las estrategias de evasión viral

Los receptores de reconocimiento de patrones, como los receptores Toll-like (TLR) y los sensores intracelulares, como la proteína 5 asociada a la diferenciación de melanomas helicasas (MDA5) y el gen 1 inducible por ácido retinoico (RIG-I), son a menudo una de las primeras líneas de defensa en la respuesta inmune innata que reconoce el ARN viral. El TLR3 humano reconoce la infección por el virus del dengue después de la acidificación endosómica e induce fuertes respuestas de interferón α / β in vitro. Tanto RIG-I como MDA5 son inducidos durante la infección por virus y están involucrados en la inducción de interferón β (19).

Cuando se desarrollan los anticuerpos y logran su adherencia al virus, este complejo

El interferón α / β es un potente inhibidor de la infección por el virus del dengue; por lo tanto, éste ha desarrollado estrategias para interferir con las vías de interferón α / β. La proteasa NS2B / 3 del virus del dengue corta directamente el mediador humano del activador del factor regulador de interferón III (MITA o STING) dentro de la vía de inducción de interferón para regular negativamente las respuestas antivirales desencadenadas por la infección del virus del dengue (21). Las células responden de forma autocrina y paracrina al interferón liberado de las células infectadas, y la señalización a través del receptor de interferón α/β está mediada por la vía de señalización STAT1 / 2. El virus del dengue también puede interferir con esta vía de señalización. NS2A, NS4A y NS4B se asocian con membranas

celulares y cuando se expresan juntas pueden inhibir la fosforilación de STAT1 en las células huésped. La proteína NS5 unida a la proteína huésped UBR-4 interactúa con STAT2 y media la degradación de STAT2 a través del proteosoma(21). **(ver Figura 3).**

4.b Respuesta inmune adaptativa

Después de la infección primaria por el virus del dengue en humanos, la mayor parte de la **respuesta humoral** mediada por anticuerpos se dirige a los epítopos dominantes que son los responsables de la inmunidad específica para cada serotipo, estos parecen estar localizados en el región bisagra de E (22). Sin embargo, la mayoría de los anticuerpos humanos contra el virus del dengue parecen ser reactivos de forma cruzada entre los diferentes serotipos, con una gran proporción dirigida a la proteína prM / M y al bucle de fusión de la proteína E (23)(24). En la infección secundaria se produce una respuesta masiva de plasmoblastos específicos para el virus del dengue durante la fase aguda de la infección con un alto grado de reactividad cruzada de serotipos (25). Con respecto a la **repuesta adaptativa celular** las células T, además de su papel potencial en la patogénesis del dengue, recientemente se ha propuesto un papel protector para las células T CD8+ (26).

La base fisiopatológica del dengue grave es multifactorial. El resultado protector versus patológico depende del equilibrio entre los antecedentes genéticos e inmunológicos del huésped y los factores virales. Se ha detectado que el nivel de activación de las células T se correlaciona con la gravedad de la enfermedad. Además, la proporción de células T reguladoras/células T efectoras aumentó en pacientes con enfermedad leve en comparación con enfermedad grave (27).

La respuesta mediada por anticuerpos es compleja y su efectividad para controlar la enfermedad es discutida, se ha observado que los inmunocomplejos formados entre los anticuerpos y el virus que ingresan a la célula por el receptos *Fcy* resultan en un aumento en la masa de células infectadas por el virus y consecuentemente aumento de la viremia (28).

La infección viral directa en las células endoteliales no parece ser la causa principal de la fuga de plasma. Se han propuesto varios factores solubles, producidos por las células T, monocitos, macrófagos y mastocitos que podrían aumentar la permeabilidad vascular en las células endoteliales primarias. Estos factores incluyen al TNF α, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, factor inhibidor de la migración de macrófagos, HMGB1, MCP-1 y metaloproteinasas de la matriz(29)(30)(31). La permeabilidad endotelial también puede verse afectada por el estado de maduración de NS4B, que modula las citocinas excretadas por las líneas celulares monocíticas.(32)Además, la proteína NS1 secretada, junto con los anticuerpos anti-NS1 y la activación del complemento, podría estar involucrada en la fuga vascular inducida por el virus del dengue(33). Los mecanismos subyacentes a la disfunción endotelial aún no se conocen bien.

4-d Factores de riesgo del huésped para el dengue grave

La infección primaria por el virus del dengue brinda protección de por vida contra el serotipo infectante y protección cruzada transitoria contra los serotipos heterólogos. Los

estudios epidemiológicos sugieren que el síndrome de dengue hemorrágico/shock por dengue ocurren principalmente en individuos durante una infección secundaria por el virus del dengue con un serotipo diferente al serotipo de la primo infección. (34). Por otro lado, como mencionamos anteriormente, la genética viral, los clados de los serotipos e intervalo de tiempo entre infecciones, pueden modular el resultado de la infección secundaria. Un mayor intervalo entre infecciones se asocia con un alto riesgo de gravedad de la enfermedad y una mayor tasa de letalidad (35)(36). Hasta qué punto las infecciones del virus del dengue terciario y cuaternario contribuyen a una enfermedad grave no está claro; sin embargo, los estudios en pacientes hospitalizados y las encuestas sero-epidemiológicas sugieren que es bajo (37). Un estudio de 2013 en Iquitos apoya que las infecciones postsecundarias reducen el riesgo de enfermedad (38).

El asma bronquial, la diabetes, la anemia de células falciformes, las diferentes etnias y otras características genéticas del huésped se han asociado con enfermedades graves. Los factores genéticos HLA y no HLA (p. Ej., Receptor de vitamina D, receptor Fcγ IIA, deficiencia de G6PD, factor de necrosis tumoral [TNF] α, interleucina 10) se han asociado con la gravedad de la enfermedad(39)(40). Además, los alelos de MICA y MICB están asociados con infección sintomática versus asintomática y se han identificado alelos MICB y PLCE1 asociados con la susceptibilidad al síndrome de shock del dengue(41)**.** Estadísticamente se ha observado menor gravedad de la enfermedad en individuos afroamericanos en comparación con los individuos caucásicos.(34)

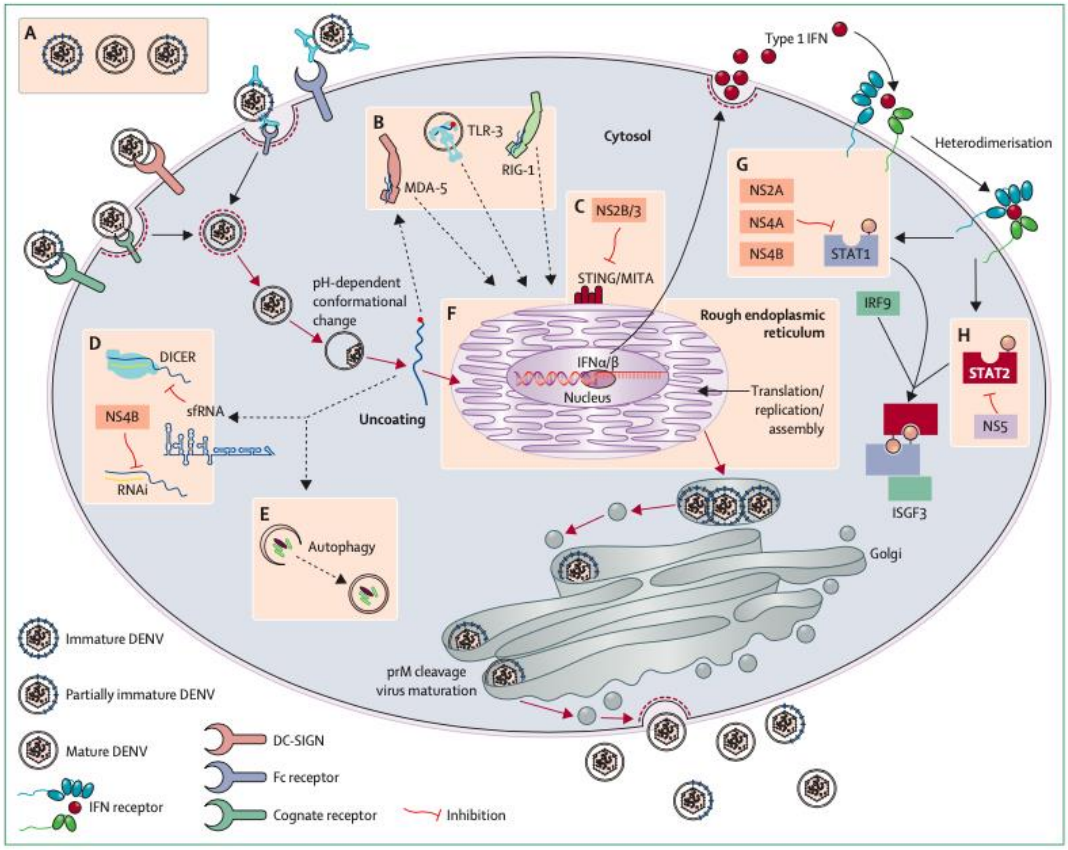


Figura-3 Ciclo de vida del virus del dengue y subversión de la respuesta antiviral celular

Las flechas rojas muestran el ciclo de vida del virus del dengue. La subversión de la respuesta antiviral celular se indica con cuadrados de color canela etiquetados con letras (A – H). (A) La madurez del virus puede afectar la infectividad y la unión y neutralización de anticuerpos. (B) Durante la intensificación dependiente de anticuerpos, la infección puede

interrumpir las cascadas de señalización del receptor tipo Toll, RIG-I y MDA5, lo que conduce a la supresión de las respuestas antivirales mediadas por interferón α / β. (C) La proteasa no estructural 2B / 3 del virus del dengue escinde MITA (o STING) dentro de la vía de inducción del interferón para regular negativamente las respuestas antivirales. (D) El ARN del flavivirus subgenómico del virus del dengue y el NS4B pueden interferir con la respuesta del ARNi. (E) La autofagia inducida por el virus del dengue podría mejorar la replicación viral. (F) El virus del dengue, en particular NS4A, induce la hipertrofia del retículo endoplásmico y manipula la respuesta de la proteína desplegada para hacer frente al estrés del retículo endoplásmico durante la infección. (G) NS2A, NS4A y NS4B cuando se expresan juntas pueden inhibir la fosforilación y translocación de STAT1 al núcleo. (H) El virus del dengue NS5 interfiere con la señalización del interferón α / β al mediar la degradación de STAT2 a través del proteasoma. DENV = virus del dengue. sfRNA = ARN de flavivirus subgenómico. TLR = receptor tipo Toll.

5. *El Vector*

El dengue es una arbovirosis (**Ar**thropod-**Bo**rne-**virus**) transmitidas por mosquitos de la familia *Aedes spp* siendo los principales vectores de la enfermedad el *A.aegypti* y *A.albopictus.* En la actualidad el principal vector de la enfermedad en nuestro territorio es el *A.egypti;* pese a los esfuerzos realizados a nivel local y regional, los grandes cambios demográficos que se han dado en las últimas, décadas como resultado de una urbanización desorganizada acompañado con el aumento del uso de recipientes no biodegradables y un método deficitario de recolección de residuos, incrementaron el número de recipientes que acumulan agua a nivel domiciliario los cuales actúan como criaderos del vector. Por otro lado, la gran capacidad adaptativa del vector, el uso intensivo de insecticidas con la consecuente aparición de resistencia y el cambio climático son otras causas que explican los fracasos de los programas de control vectorial que sufre la región.

5.a Taxonomía

El orden al que pertenecen los mosquitos , moscas, zancudos es el *Díptera*. Se pueden distinguir fácilmente de otros insectos porque poseen solamente un par de alas desarrolladas, además de los balancines o halterios (alas no desarrolladas). La familia *Culicedae*, nombre proveniente del Cullex, un integrante de dicha familia, consiste en 3200 especies descriptas en la actualida;, en esta familia están los comúnmente denominados zancudos o mosquitos, se caracteriza por Proboscis larga, machos con antenas plumosas, alas alargadas con escamas a lo largo de las venas marginales y vena subcostal bien desarrollada; los adultos se alimentan de sustancias azucaradas, pero las hembras son hematófagas (zoofilias o antropofílicas)condición generalmente necesaria para el desarrollo de los huevos. (42)

Aedes aegypti

Esta especie, probablemente se originó en África, donde existen poblaciones de mosquitos selváticas y domésticas, mientras que en las Américas sólo se encuentra adaptado a vivir en zonas domésticas. Parece probable que haya sido transportado por buques del Viejo al Nuevo Mundo en barriles de agua durante las primeras exploraciones y colonizaciones europeas. *A.aegypti* es una especie tropical y subtropical que se encuentra en todo el mundo, por lo general limitada a latitudes entre 35° norte y 35° Sur, correspondientes a una isoterma de invierno de 10°C. La altitud también es una limitante de su distribución, por lo general, no se encuentra por encima de los 1000 m, aunque se ha observado a 2121 en la India y a 2200 m en Colombia (Málaga) Santander. En general se

considera que *A.aegypti* está en todas partes del mundo donde sus criaderos puedan sobrevivir al efecto de la congelación. *A. aegypti* es un mosquito tropical que recientemente se ha vuelto endémico en muchas regiones geográficas nuevas debido a la globalización, el cambio climático y el desuso del DDT (diclorodifeniltricloroetano) como insecticida. Con excepción de Chile continental, Canadá y Bermudas el resto de los países de las Américas se hallan infestados con *A. aegypti*. La abundancia del vector, medida con los índices domiciliario o índice de Breteau (número de domicilios con recipientes infectados con huevos de dengue cada cien domicilios inspeccionados) muestra en general el fracaso de los planes de control del vector. *A.aegypti* es el vector principal de DENV, virus chikungunya (CHIKV), virus zika (ZIKV) y virus de la fiebre amarilla (FA) entre otros. *Aedes albopictus* también es un vector competente para muchos arbovirus, incluidos DENV y CHIKV, ZIKV aunque normalmente conduce a epidemias más leves.

El *A.aegypti* de hábitos domésticos, de color oscuro, consta de cabeza, tórax y abdomen. En la cabeza se encuentra la proboscis, las antenas, los palpos y los ojos. En el tórax se encuentra dibujada una lira blanca característica **(Imagen-1)**.Puede picar en cualquier hora del día o de la noche, pero su mayor actividad se registra durante el día con picos importantes de actividad entre las 10 y 11 am y entre 4 y 5 p.m. Inmediatamente luego de emerger en las 24 horas siguientes, machos y hembras se aparean, generalmente por única vez en el caso de las hembras y se inicia la etapa reproductora. Después de la copulación y de haber tomado sangre del hombre o de animales, la hembra reposa en lugares tranquilos y en rincones semioscuros donde tenga acceso a fuentes de agua para colocar sus huevos. El mosquito tiene un período de vida o longevidad de tres a ocho semanas. El tiempo de evolución de huevo a adulto varía de acuerdo con las condiciones de temperatura y alimentación de la larva (en un rango de 12 a 15días)(44).

A. albopictus también se ha encontrado en la naturaleza infectado con el virus del Oeste del Nilo (VNO), el virus de la encefalitis equina del Este (EEEV) y el virus de la encefalitis japonesa (EJV) (43). Por sus hábitos rurales/urbanos *A. albopictus* es un vector adecuado para intermediar entre los ciclos selvático y urbano de la fiebre amarilla (en el ciclo selvático los vectores de fiebre amarilla son mosquitos del género *Haemagogus*). *A. albopictus* compite exitosamente con *A. aegypti*, mostrando un área de circulación mundial más amplia por su mayor resistencia a factores climáticos, siendo el principal transmisor de la enfermedad en Asia.

.

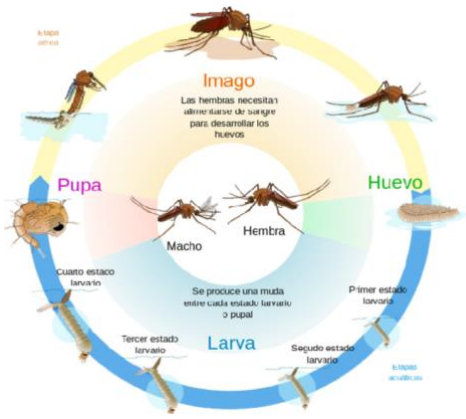


Figura-4: Ciclo de vida del mosquito con sus diferentes estadios del *A.aegypti.* Como todo los Holometábolos en cada estadio los individuos son morfológicamente y sus partes funcionalmente diferentes, adaptándose al medio donde se desarrollan el tiempo de evolución de huevo a adulto en condiciones ideales varia entre 12-15 días.

Influencia de la saliva en la transmisión: Se ha demostrado una correlación entre la mejora de la infectividad por el virus mediada por la saliva y su modulación de las respuestas inmunitarias de interferón (IFN), factor de necrosis tumoral (TNF) y T helper 1/2 (Th1 / Th2), Ningún estudio ha probado directamente si la modulación de la respuesta inmune es necesaria para el aumento de la infectividad o es simplemente una consecuencia de la exposición a los alérgenos de la saliva. Dicho esto, la mayoría de los estudios muestran que la saliva puede suprimir la expresión de IFN tanto en sistemas modelo in vitro como in vivo. Está claro que tanto la saliva del mosquito como el virus deben inocularse en el mismo sitio cutáneo para que ocurra un aumento de la infectividad, lo que sugiere que un componente de la saliva del mosquito altera el sitio de inoculación local a favor de la transmisión del virus(45)(46)(47)(48).

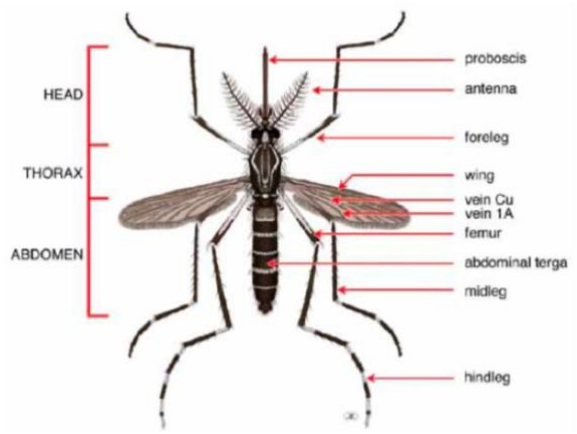


Imagen-1: Figura adulta de *A.aegypti*. El cuerpo se encuentra dividido en tres secciones: cabeza, tórax y abdomen, en la cabeza se encuentra la probóscide el cual es el elemento succionador para realizar la alimentación. La característica principal para reconocer a estos adultos va a ser el rayado blanco y negro que presentan en sus 3 pares de extremidades y a nivel microscopio entomológico podemos observar en el tórax dibujada la lira blanca elemento distintivo de la especio. **Imagen-2:** ejemplar adulto de *A.aegypti* eclosionando tras cumplir un período promedio de dos días como pupa.

5.d Estrategias para el control del dengue y del Aedes aegypti en las Américas

Las campañas de erradicación del *A. aegypti* fueron muy exitosas en las décadas de los años 50 y los 60, a partir de la Resolución de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) aprobada en 1947. Para el año 1972 se había logrado la erradicación del vector en 21 países de la Región. Sin embargo, la falta de sostenimiento y en algunos casos abandono de los programas trajo como resultado la reinfestación de los países, perdiéndose el esfuerzo realizado en los años anteriores. En 1997, prácticamente todos los países de América se encontraban infestados nuevamente, incluido el Sur de los Estados Unidos de Norteamérica; y han ocurrido numerosas epidemias de dengue y de dengue hemorrágico en la Región, lo que se ha convertido progresivamente en un problema de salud. Se presentó la Estrategia Mundial de la OMS para la prevención y el control del dengue 2012-2020, cuyo objetivo es reducir la carga del dengue mediante la reducción de la mortalidad por dengue en un 50% y

la morbilidad en un 25% para 2020. La Estrategia Global se basa en seis estrategias destinadas a trabajar de manera integrada gráficas en la siguiente figura:

Figura-5: Estrategia Gestión Integral del Control y prevención del Dengue OPS/OMS 2014. Esta estrategia integral tiene un enfoque interdisciplinario . El sinergismo de dichas aéreas al trabajar en conjunto podría disminuir la morbimortalidad en las Américas.

Entre los esfuerzos actuales del Programa Regional de Dengue se encuentran los siguientes: 1) Fortalecer la **vigilancia epidemiológica** del dengue, mediante el desarrollo de un modelo genérico de un sistema integrado de vigilancia , 2) Fortalecer las **redes de laboratorios** en el manejo de prácticas efectivas en el diagnóstico de dengue a través de la Red de Laboratorios de Dengue de las Américas (RELDA, acrónimo del nombre en español de la red), 3) **Fortalecer el monitoreo y control de vectores** en entomología, manejo integrado de vectores y monitoreo de resistencia a insecticidas, 4) **Mejorar el manejo clínico de pacientes** , mediante la adaptación para las Américas de las guías clínicas de la OMS publicadas en 2009; una segunda edición de la cual se encuentra actualmente en proceso, y 5) **Fortalecer la comunicación social** mediante el uso de metodologías de planificación de la comunicación para impactar en los comportamientos de las poblaciones que enfrentan el problema del dengue, incluidos líderes políticos, funcionarios de salud, residentes y otros actores. En el informe sobre el estado del arte para la prevención y el control del dengue en las Américas, realizada del 28 al 29 de mayo de 2014 en Washington, D.C se ha reconocido como una de las áreas más débiles el número limitado de herramientas para el control de vectores, junto con la urgente necesidad de fortalecer la capacidad de cada país para monitorear la resistencia a los insecticidas. El Grupo Asesor de Control de Vectores (VCAG), creado recientemente, es una respuesta a esta necesidad y actúa como grupo asesor de la OMS para proporcionar recomendaciones sobre el uso de nuevas herramientas y tecnologías para el control de vectores. El objetivo es apoyar los esfuerzos regionales con un mayor aporte en investigación para ayudar a los países a alcanzar los objetivos globales(56)(57)(58).

6. *Epidemiología*

El dengue ha pasado de ser una enfermedad esporádica a convertirse en un importante problema de salud pública con importantes efectos sociales y económicos debido al aumento de su extensión geográfica, el número de casos y la gravedad de la enfermedad. Actualmente es endémico en más de 100 países de Asia, las Américas, el Pacífico occidental, África y las regiones del Mediterráneo oriental. Su incidencia se ha multiplicado por 30 en los últimos 50 años(59). Estimaciones recientes realizadas en 2013 citan que se presentan 96 millones de casos al año en todo el mundo, más de tres veces la estimación de la OMS de 2012. Sin embargo, la verdadera carga de morbilidad no se conoce bien, especialmente en India, Indonesia, Brasil, China y África (2). Se ha calculado en estudios recientes que se producen en realidad de dos a veintiocho veces más casos de dengue que los notificados por los sistemas nacionales de vigilancia(60)(61). Los brotes de dengue en la India y la región del Mediterráneo oriental han aumentado progresivamente, con informes recientes de casos en Pakistán, Arabia Saudita, Sudán, Yemen y Madagascar. Se ha documentado un resurgimiento de la actividad del dengue en Hawai, las islas Galápagos, Isla de Pascua, Hong Kong . También se han informado introducciones de dengue en Florida, el sureste de Francia y la isla de Madeira.(62) La presencia de mosquitos *A. albopictus y A. aegypti* en Europa, junto con el aumento de los viajes plantea un riesgo de transmisión sostenida en zonas europeas donde previamente no había casos autóctonos.

En las Américas desde la reintroducción del vector en 1970, los casos crecen década a década dándoseuna situación de hiperendemicidad con los cuatro serotipos circulando en todos los países del continente Americano, a excepción de Chile.

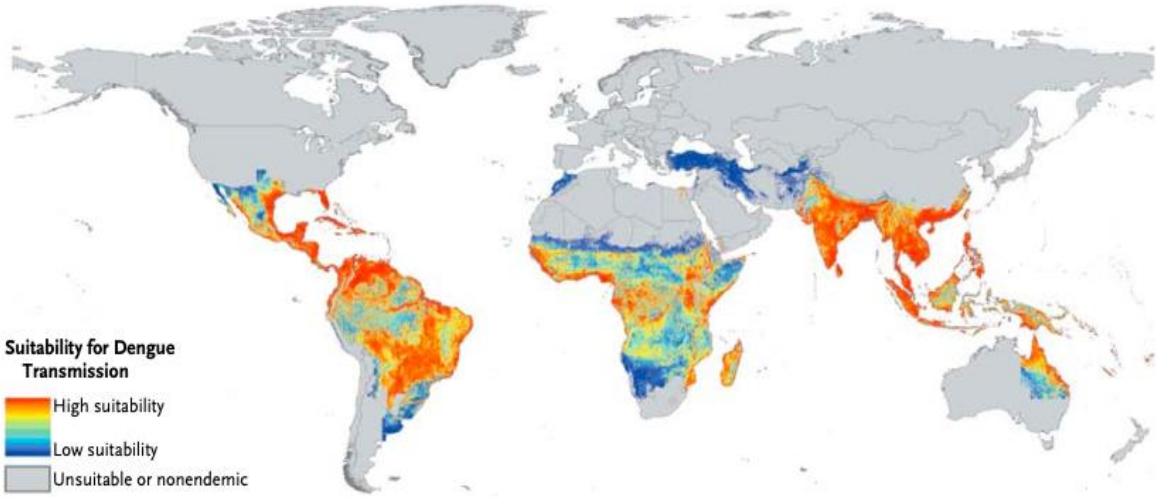


Figura-6: Riesgo global de dengue: La determinación del estado de riesgo se basó en informes combinados de la Organización Mundial de la Salud, los Centros para el Control de Enfermedades and Prevención, Gideon online, ProMED, DengueMap, Eurosurveillance y literatura publicada. Dentro de las áreas en riesgo, se modeló la idoneidad ambiental para la transmisión del dengue con el uso de un algoritmo de árbol de regresión reforzado que tuvo en cuenta 8342 registros de ocurrencia puntual confirmados, pseudoausencias de fondo aleatorias (ausencias generadas artificialmente) y un conjunto de 18 covariables ambientales y climáticas y fuentes de datos (Bhatt S, Gething PW, Brady O y Hay S: comunicación personal).

6.a Carga Económica del Dengue

El dengue impone una gran carga económica tanto a los gobiernos como a las personas. La enfermedad del dengue en las Américas cuesta en promedio US $ 2 billones por año, excluyendo el control de vectores, lo que excede los costos de otras enfermedades virales (60). En el Sudeste Asiático se estimaron 2.9 millones de episodios de dengue y 5906 muertes al año, con una carga económica anual de US $ 950 millones.

Se pierden 264 años de vida ajustados por discapacidad por millón de habitantes por año (63), a un costo estimado para casos ambulatorios y hospitalizados de US $ 514- 1300 millones(60), que a menudo afectan a poblaciones muy pobres. Es probable que las cifras reales sean mucho peores, ya que se han documentado sub-reporte de casos en varias regiones (60). La emergencia global está relacionada con los cambios demográficos y sociales de los últimos 50-60 años, incluido el crecimiento demográfico sin precedentes, el aumento del movimiento de personas, la urbanización descontrolada, el cambio climático, el colapso de la infraestructura de salud pública y el abandono en los programas de control de vectores.

En América Latina y el Caribe, por ejemplo, en la década de 1990 el dengue estaba causando una carga de enfermedad similar a la meningitis, la hepatitis, la malaria, el grupo de enfermedades infantiles (polio, sarampión, tos ferina, difteria y tétanos) o tuberculosis(64). En el Sudeste Asiático, la carga de la enfermedad era comparable a la de la meningitis(65).

Si observamos el gasto en salud asociado a dengue los datos no son alentadores, en el 2008, sólo en el estado de Río de Janeiro, un brote provocó más de 158 000 casos notificados, más de 9 000 ingresos hospitalarios y 230 muertes entre enero y abril(66). Esta situación llevó a que se desplegaran militares para ayudar en la respuesta masiva, que en su mayoría incluyó mejores operaciones de control de vectores y atención médica. Posteriormente se formuló un llamado a la ayuda internacional, aunque se estima que ya se estaban gastando mil millones de dólares a nivel nacional en la prevención y el control del dengue. A pesar de estos esfuerzos de control, en 2010 se notificaron más de 1,2 millones de casos de dengue en Brasil, que es solo un país citado como ejemplo del empeoramiento de la situación mundial.

Dada la importancia de la epidemia mundial de dengue, con sus asombrosos costos humanos y económicos, hace mucho que se necesita un esfuerzo internacional para reducir la morbilidad y la mortalidad.

La revisión de 2005 del Reglamento Sanitario Internacional (RSI), adoptada por la 58ª Asamblea Mundial de la Salud (resolución WHA58.3), incluye el dengue como un ejemplo de una enfermedad que puede constituir una emergencia de salud pública internacional. La implementación del RSI obliga a los países a tomar acciones rutinarias y específicas para desarrollar la resiliencia contra estas enfermedades propensas a epidemias. Tales acciones requieren inversión en capacidad de vigilancia y preparación para la detección temprana y notificación de brotes de enfermedades, y la realización de respuestas de salud pública sólidas y oportunas para su contención y mitigación, incluido el intercambio y la colaboración transfronteriza e internacional de información más amplia (59).

6.b Transmisión de dengue en viajeros

En un informe de Geosentinel Surveillance Network que incluyó a casi 25.000 viajeros que regresaron de diferentes continentes enfermos entre 1997 y 2006, la fiebre fue una de las principales razones para buscar atención (28 % de los casos) (67). Los diagnósticos etiológicos más frecuentes entre los pacientes con fiebre fueron la malaria y el dengue (21 y 6 % de los casos, respectivamente). Otros diagnósticos incluyeron enfermedad febril no especificada (22%), diarrea (15%) e infección respiratoria (14 %).

De los 25.000 viajeros que regresaron enfermos vemos que el riesgo de dengue, en contexto de síndrome febril post viaje ,varía según la situación epidemiológica del país de destino. Mientras que en África subsahariana la principal causa de fiebre post viaje es malaria, en viajeros que retornan del Sudeste Asiático la principal causa es el dengue (18%) seguido por gastroenteritis infecciosa (17%), infecciones respiratorias (17%), malaria (7%) y otras (22%).

En el Caribe y América Central y del Sur: la enfermedad febril estuvo presente en el 25 % de los diagnósticos post viaje, de los mismos 9%, se atribuyeron a dengue, 8% a malaria, 13% enfermedades respiratorias, 15% enfermedades diarreicas y en el 26 % no se obtuvo un diagnóstico(68).

6.c Epidemiología Las Américas

Las primeras epidemias compatibles con dengue en Latinoamérica y el Caribe ocurrieron en las Antillas Francesas en 1635 y en Panamá en 1699. Sin embargo, los primeros reportes clínicos en la literatura médica atribuidos a esta enfermedad corresponden al año 1779 en la isla de Java, Indonesia, en el Sudeste Asiático, y a 1780 en Filadelfia, Estados Unidos. En las primeras décadas del siglo XX, los brotes fueron más comunes en Estados Unidos, con importantes epidemias en Florida en 1934 y en Nueva Orleans en 1945(69) (70). Además, antes de fines del siglo XVIII, ocurrieron epidemias intermitentes de una enfermedad con fuerte similitud con el dengue en Asia y las Américas; por lo tanto, existe la hipótesis de que entre los siglos XIX y XX, el virus probablemente se propagó por los trópicos y subtrópicos (11).

La trayectoria de los brotes de dengue en las Américas fue caracterizada por *Brathwaite Dick et al.*, quien describió un historial de brotes desde 1600 hasta 2010 que se clasificó en cuatro fases:

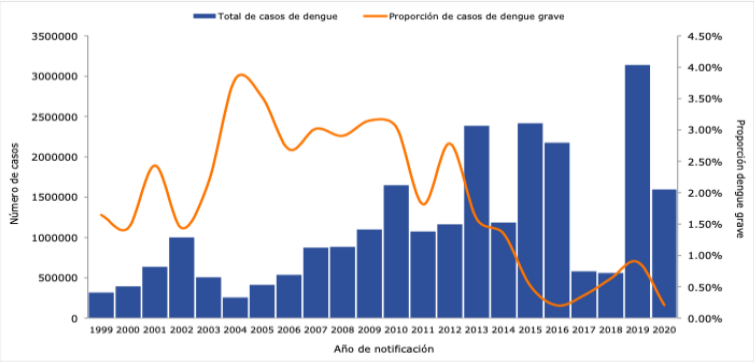
I- Introducción del dengue en las Américas (1600-1946)

II- Plan continental para la erradicación de A. *aegypti* (1947-1970) marcado por la erradicación exitosa del mosquito en 18 países continentales

III- Reintroducción del A. *aegypti* en el continente (1971-1999) causada por el fracaso del programa de erradicación de mosquitos y una mayor dispersión de A. *aegypti*

IV- La recirculación de DENV (2000-2010) caracterizada por un marcado aumento en el número de brotes (71).

Figura-7: Distribución de casos notificados de dengue y proporción de dengue grave por año de notificación. Región de las Américas, 1999-2020



Fuente: Datos ingresados a la Plataforma de Información de Salud para las Américas (PLISA, OPS/OMS) por los Ministerios e Institutos de Salud de los países y territorios de la Región. La información detallada por país está disponible en: https://bit.ly/2UHpBBd

Si analizamos los casos de dengue en las Américas en la última década, coincidentemente se observaron nuevos brotes luego del gran movimiento de personas provocado por cuatro eventos deportivos mundiales: los Juegos Panamericanos 2011 en Guadalajara (México), la Copa Confederaciones 2013, la Copa del Mundo 2014 y los Juegos Olímpicos de 2016, todos ellos en Brasil.

Si se consideran datos de la de la OPS (72), a fines de **2011** se notificaron en las Américas un total de 1.073.978 casos de dengue, 19.450 casos de dengue grave y 758 defunciones, con una incidencia promedio de 113 casos / 100.000 hab/año.

A fines de **2013**, hubo un aumento en el número de casos; se reportaron 2,384.234 casos de dengue y 1,403 defunciones. La incidencia media de dengue fue de 245 casos / 100.000 hab/año. Sin embargo, es importante resaltar que si bien hubo un incremento en el número de casos de dengue, el total de casos graves (37,692) y la CFR se mantuvieron cercanos a los valores observados en 2012. La subregión del Cono Sur reportó un total de 1,627,453 casos, contribuyendo el 68% del total de casos. Una vez más, **Brasil** contribuyó con el mayor número de casos en esta región, 1.473.645 casos, **contando con el 90% del total de casos**.

En **2015**, hubo un aumento en el número de casos; en todo el continente se registraron un total de 2.430.178 casos de dengue con 1354 defunciones, con una incidencia media de 245 casos / 100.000 habitantes. Los datos registrados superaron el número total de casos notificados en 2014. Sin embargo, es importante destacar que a pesar del aumento en el número de casos, el número total de casos graves (12.824) y el CFR (0,05) se mantuvo muy por debajo de los valores observado durante 2014. Además, Brasil, Colombia y México informaron la co-circulación simultánea de los cuatro serotipos de DENV. La subregión del Cono Sur reportó un total de 1.054.188 casos, contribuyendo con el 87% del total de casos en el continente, seguida de la subregión andina y la subregión de América del Norte y Central, con el 6% del total de casos. Brasil contribuyó con el 85% del número total de casos en el continente (896.059 casos notificados).

Finalmente en el año **2020** y pese a las restricciones en el movimiento población se dio de forma sindémica con el COVID-19 un total de 2.180.374 casos de dengue: 1.701.449 en el Cono Sur, 5940 casos en el Caribe Latino, 228.995 casos en Centroamérica y 243.990 casos en la Región Andina. la incidencia global en el 2020 fue de 344,02 casos /100.000 hab.

En las últimas décadas las tasas de mortalidad por dengue cada 100.000 habitantes se ubican por debajo del 0,5% en las Américas. Las subregiones que presentan un mayor porcentaje de mortalidad son el Cono sur y el Caribe Latino (73).

6.e Situación epidemiológica en Argentina

La primera epidemia de dengue registradaen Argentina de la que tengamos datos fue en **1916** comprometiendo la región mesopotámica a lo largo del río de Uruguay (Corrientes y Entre Ríos), alcanzó la ciudad de Paraná y afectó a aproximadamente el 50% de la población. Este brote, que tuvo su origen en Paraguay, no llegó a la ciudad de Buenos Aires, a pesar de la circulación de *A. aegypti* que se sabe presente desde por lo menos la primer epidemia de fiebre amarilla en 1858, hasta la última en 1896.

Desde su reintroducción en Argentina en 1997 , y hasta el 2008, se registraron 3.451 casos confirmados de dengue. El 14,7% (509 casos), fueron importados. Las provincias que notificaron casos autóctonos fueron cinco: Salta, Jujuy, Formosa, Corrientes y Misiones. Hasta el año 2008, los casos autóctonos se originaron a partir de uno o más casos iniciales importados y aparecieron en regiones limítrofes, distribuidos en brotes, ocurridos en diferentes localidades de las provincias de Salta, Jujuy, Misiones, Formosa y Corrientes. Salta contribuyó con más del 70% de los casos. Los brotes ocurridos en el NOA Argentino (en las provincias de Salta y Jujuy) durante la última década, se asociaron a tres serotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3. En cambio, en el NEA (provincias de Formosa, Misiones y Corrientes), se registraron brotes debidos a los serotipos 1 y 3 **(tabla-2).**

A fines de **2008** una epidemia de dengue por serotipo 1 afectó varios departamentos de la República de Bolivia, incluyendo los que están localizados en la frontera con Argentina o que mantienen un intenso flujo de personas con distintas regiones de nuestro país. El primer efecto de este movimiento poblacional se hizo sentir en la región del Noroeste Argentino (NOA), produciendo un brote en la ciudad de Orán, donde se asistieron cerca de 200 casos/día, durante varias semanas, lo cual indica la magnitud de la epidemia. La ciudad de Tartagal también fue afectada, hecho agravado por otra catástrofe hídrica que ocasionó miles de evacuados en condiciones de hacinamiento. A los pocos días ya estaba esparcida en la provincia de Chaco. Una sorpresa epidemiológica la constituyó la provincia de Catamarca, dada su situación de provincia andina. Siguiendo la cronología metódica y progresiva de una enfermedad que se esparce con el flujo migratorio de los pacientes virémicos, en febrero se asistieron en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires pacientes provenientes de Salta y de Chaco. A partir de marzo, y con la misma lógica epidemiológica, aparecieron los primeros casos sospechosos de dengue autóctono en el Área Metropolitana de Buenos Aires. En resumen, por primera vez desde su reintroducción en 1997-8 en el NOA, asistimos a una epidemia que afectó una amplia región de la Argentina, que además ingresó a formar parte de los países que han presentado casos de dengue grave.

Año	SEROTIPO	CORRIENTES	FORMOSA	JUJUY	MISIONES	SALTA	CASOS TOTALES
1998	**DEN-2**					**330**	**330**
1999	**DEN-2**					**445**	**445**
2000	**DEN-1**		**230**		**215**		**445**
2001							**0**
2002	**DEN-1**					**204**	**204**
2003	**DEN-1-2-3**					**91**	**91**
2004	**DEN-3**		**105**	**66**		**1320**	**1491**
2005							**0**
2006	**DEN-2-3**		**6**		**106**	**175**	**287**
2007	**DEN-2-3**	**35**				**173**	**208**
2008	**DEN-1**					**40**	**40**

Tabla-2 Registro de casos de Dengue en el país período 1998-2008. Fuente Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Según los registros oficiales la provincia de Salta es la que mayor reporte de casos presento para dicho periodo con un total de 2778 casos (78%). Como podemos observar en solo 10 años circularon todos los serotipos de dengue a excepción den DEN-4.

6.f Epidemia de dengue 2009

A partir de la semana epidemiológica (SE) 53 del año 2008 hasta la SE 21 de 2009 se notificaron 26.923 casos de dengue autóctono en el país. El brote de dengue a nivel nacional se inicia en el departamento de Orán, en Salta, donde los primeros casos autóctonos se observaron durante la SE 53 de 2008 y se extendió hasta la SE 21 del 2009. La extensión del brote abarcó catorce jurisdicciones del país, siendo para diez de ellas el primer episodio de brote de dengue autóctono registrado. Las regiones NOA, Centro y NEA vieron afectadas a todas las jurisdicciones que las componen, mientras que en la región de Cuyo, sólo La Rioja presento casos autóctonos. La región Sur solo notificó casos importados.

La **tasa de letalidad** del brote en Argentina fue de 1,85 muertes por 10.000 casos confirmados. Los departamentos más afectados a nivel nacional fueron Chacabuco e Independencia en Chaco y la Capital en Catamarca con tasas superiores a 450 casos cada 10.000 habitantes. La distribución de casos según localidad, muestra que la más afectada por el brote a nivel nacional fue San Fernando del Valle de Catamarca con 8.857 casos notificados oficialmente. El análisis temporal de los casos a nivel país, evidencia una curva epidémica unimodal con un pico máximo de casos confirmados durante la SE 16 (19 al 25 de abril).

6.g Epidemia de dengue 2016

Entre las SE 1 la SE 25 (enero-junio) del 2016 se registraron brotes de dengue en quince jurisdicciones del país. Durante este período se notificaron **76.734** casos con sospecha de dengue (incluyendo probables, confirmados, descartados y en estudio). De ellos, **41.207** correspondieron a casos confirmados o probables autóctonos (por nexo epidemiológico o laboratorio), mientras que **2.681** correspondieron a casos confirmados y probables importados, distribuidos en **23 provincias**. Los casos ocurridos en el contexto de brote durante el 2016 superaron en un 53% a los registrados en el 2009 para el mismo período. En la presente temporada el aumento del número de casos comenzó hacia fines de

2015 con picos en las SE4, 8, 9 y 14 correspondientes a los meses de enero, febrero y marzo. Se reportaron **10 pacientes fallecidos** con dengue cuya clasificación se encuentra pendiente. Los últimos casos autóctonos se registraron en la SE25 (junio 2016) y no hubo nuevos casos hasta la SE 34 en la que se confirmó un caso de dengue serotipo DEN1 autóctono en la ciudad de Posadas, Misiones.

Los brotes comenzaron en la región NEA, particularmente en Formosa y Misiones, a fines del año 2015 constituyéndose en la región con el mayor número de notificaciones de la temporada, Esto se produjo debido al intenso flujo migratorio entre dichas provincias y ciudades de los países limítrofes de Paraguay y Brasil las cuales se encontraban con un aumento significativo en el número de casos.

En este período se estudiaron por laboratorio 45.129 de los 76.734 casos notificados (58,8%). De los casos estudiados 20.886 resultaron positivos (46,3%). **El DEN1 correspondió al 99% de los casos** en los que se pudo identificar el serotipo. Se observó co-circulación de DEN1 con DEN4 en localidades de Buenos Aires, Salta y Santa Fe. Por otra parte, las variaciones en cuanto a las proporciones de positividad entre provincias son altas y están vinculadas a la prevalencia del evento en la población (provincias con proporción de positividad global inferior al 10% como Tucumán, La Rioja, Catamarca a provincias con más del 40% de positividad, como Buenos Aires, CABA, Chaco, Formosa y Misiones).

6.h Brote de Dengue 2016 en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

En Ciudad Autónoma de Buenos Aires(CABA), desde el inicio del año 2016 y hasta el 25 de abril, se registraron **11.363 casos** sospechosos de ETM (Enfermedades Transmitidas por Mosquitos). El 60,9% de los pacientes fueron asistidos en hospitales y centros de salud públicos de la Ciudad. Se identificaron 3704 casos importados de dengue y 7291 autóctonos (residentes). En 368 casos no se dispone de datos de residencia.

En Residentes de CABA (n=7291), se consideraron positivos para Dengue 4295 casos (por laboratorio o por nexo epidemiológico a partir del 16 de marzo de 2016). Del total de casos positivos, en 457 (12%) se identificó el antecedente de viaje (Formosa, Misiones, Entre Ríos, Corrientes, Bolivia, Brasil, Colombia, Paraguay, Perú, St. Marteen y Venezuela). Se descartaron 100 casos; otros 441 casos presentaron resultados negativos no conclusivos. Se internan 21 casos sospechosos de dengue en hospitales públicos de la Ciudad por presentar signos de alarma; 2 de ellos en UTI. Se notificaron dos fallecimientos en pacientes con comorbilidades: Un paciente de sexo masculino de 48 años y una de sexo femenino de 47 años. Las tasas de notificación según comunas presentan diferenciales importantes; en promedio, las tasas de las comunas 4, 8 y 10 son 5 veces más elevadas que las de la 2, 3, 7 y 14 **(Figura-8).** El hospital de infecciosas F J Muñiz se encuentra localizado en la comuna 4 (comprendida por los barrios de Barracas, La Boca, Parque Patricios y Pompeya) siendo una zona en riesgo epidemiológico para las ETM debido a su urbanización precaria, bajos niveles socioeconómicos y flujo migratorio desdepaíses limítrofes que estaban sufriendo un brote de dengue en ese entonces.

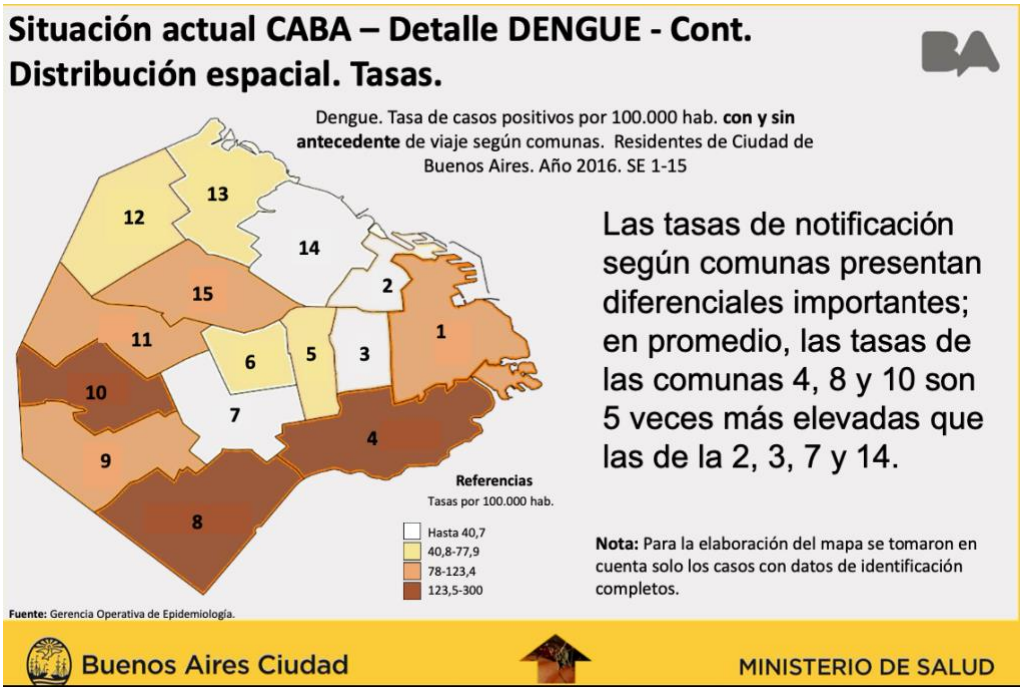


Figura-8: Distribución de casos de dengue (autóctonos e importados) según tasas cada 100000 habitantes por comuna. Como observamos en el mapa las comunes mas afectadas fueron las de la zona sur de la capital federal.

6-i Brote de Dengue 2019-2020

En Argentina, para la temporada 2019-2020, se notificaron al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud **96.454 casos con sospecha de dengue** . Se registraron 56.293 casos de dengue (entre probables y confirmados por laboratorio o nexo epidemiológico) sin antecedente de viaje, 1.498 con antecedente de viaje al exterior u a otras provincias y otros 1.098 cuyo lugar de adquisición se encuentra aún en investigación. En dicha temporada se registró la presencia de 3 serotipos. De los casos serotipificados el 72% correspondió a DEN-1, 26% a DEN-4 y 2% DEN-2. En la temporada 2019-2020 se registró el mayor número de casos con un total de 58.889 casos superando en casi un 40% los casos acumulados en la temporada 2016. La distribución por SE de casos confirmados y probables en la temporada 2015-2016 muestra un mayor número en las primeras semanas del año, con máximos en las SE 9 y 14, mientras que en el brote 2019-2020 muestra su valor máximo en la SE 17.

En cuanto a la distribución por edad, la población en edad económicamente activa fue la más afectada. La franja de 20 a 34 años presentó el mayor número de casos y la tasa de incidencia más elevada, seguido por las franjas de 35 a 44 años y 10 a 19 años. Las tres muestran tasas mayores a la de la población general que llega hasta el momento a 132,4 casos cada 100 mil habitantes.

Durante la temporada 2019-2020, a nivel país, las regiones Centro y NOA aportaron la mayor cantidad de casos, con más de 22.500 y 22.000 casos de dengue, respectivamente, considerando los casos con y sin antecedentes de viaje. La Región NEA aportó un menor número de notificaciones, pero el brote se evidenció más extenso en el tiempo. La Región Cuyo, si bien también notifica casos autóctonos, apenas ha registrado 145 casos confirmados y probables en toda la temporada. En la presente temporada se registraron 26 personas fallecidas con pruebas positivas para dengue y otras 8 se encuentran en investigación (casos con sospecha de dengue, pero sin pruebas de laboratorio positivas) hasta el 25/07/2020. De

los 26 fallecidos que registran pruebas positivas para dengue 9 eran mujeres y 17 varones, con edades entre 14 y 88 años y una media de 57 años.

7. Manifestaciones Clínicas

El dengue tiene un espectro de presentación clínica que varía desde casos asintomáticos, síndromes febriles agudos inespecíficos y cuadros clínicos más floridos con sus manifestaciones típicas como síndromes febriles hemorrágicos y síndromes de shock hemodinámico que comprometen la vida del paciente. Las infecciones sintomáticas son más frecuentes entre los pacientes adultos(74); entre los niños, la mayoría de las infecciones por dengue son asintomáticas o mínimamente sintomáticas. El período de incubación de la infección por DENV varía de 3 a 14 días, los síntomas se desarrollan típicamente entre 4 y 7 días después de la picadura de un mosquito infectado(75). Se caracteriza por presentar dos periodos bien definidos (Etapa Febril y Etapa Crítica) los cuales nos guiarán en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

7.a Fases de la infección por dengue

Clínicamente el dengue comparte características clínicas con otras causas de síndromes febriles agudos (OSFA) de relevancia epidemiológica (leptospirosis, rickettsiosis y otras arbovirosis). Estas enfermedades se componen de tres etapas típicamente diferenciadas **(figura-9)**: la **Etapa Febril o Fase de infección**: donde actúa la respuesta inmune innata y la **Fase de Estado o Critica;** donde la respuesta inmune adaptativa generada por el individuo desarrolla una serie de signos y síntomas que tienen como origen fisiopatológico la afección vascular (vasculitis) por mecanismos inmunomediados de diferente clase. Si bien no está presente en todos los casos, existe una breve **Fase de remisión**, que se presenta entre la Fase Febril y la Fase de Estado, y se caracteriza por el cese de la fiebre y en algunos casos se observa una leve mejoría clínica. Esto genera una curva febril de tipo bifásico, que es característica en muchas enfermedades infecciosas de origen zoonótico. Fisiopatológicamente se explica por la remisión de la inmunidad innata y la aparición de la respuesta inmune adaptativa. En el caso de la enfermedad por dengue este período se encuentra solapado, la fase de remisión de la fiebre se produce conjuntamente con la fase crítica o de estado como lo desarrollaremos más adelante. Finalmente el **período de convalecencia** se presenta en todos los pacientes recuperados siendo una recuperación *"ad integrum"* sin dejar secuelas y sinevolucionar a formas crónicas de la enfermedad.

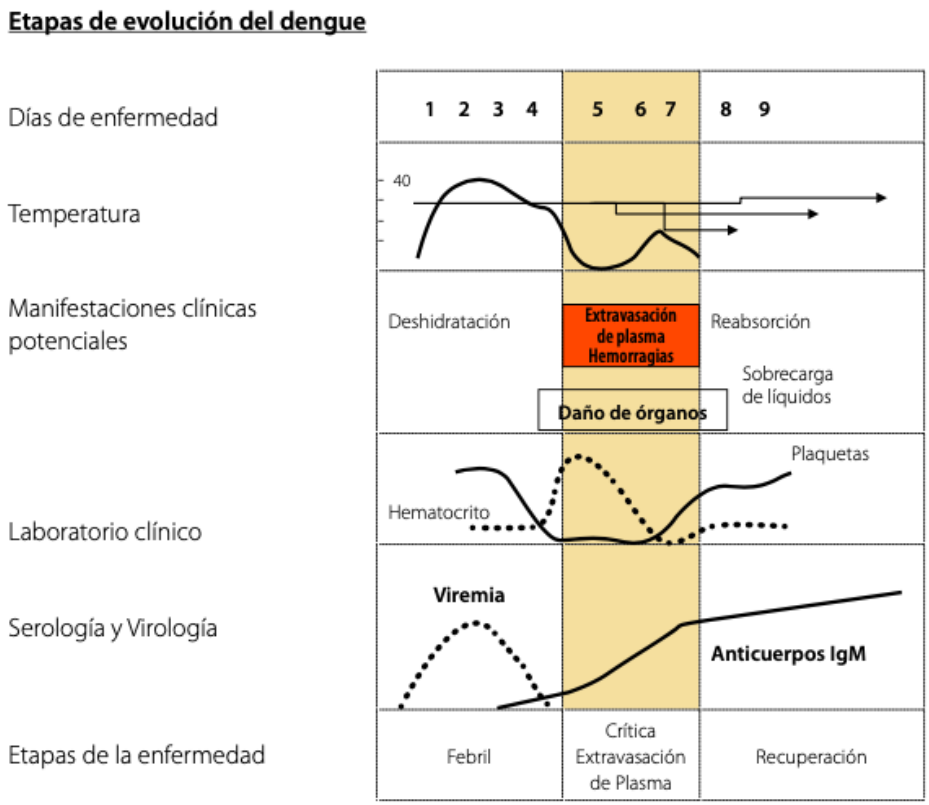


Figura-9: Fisiopatología del dengue: El dengue tiene 3 etapas clínicas claramente diferenciadas: **Etapa Febril** caracterizada por síntomas inespecíficos típicos en un síndrome febril agudo coincidente con el momento de viremia y donde la inmunidad innata actúa como primera línea de defensa generando las vías de presentación antigénica para la inmunidad adaptativa. La **Etapa critica** de la enfermedad comprendida en las 48hs tras el cese de la fiebre, en esta etapa aparecen los síntomas mas típicos del dengue, además se puede observar frecuentemente leucopenia y plaquetopenia lo cual permite la sospecha diagnostica de la enfermedad, la viremia desaparece conjuntamente con la defervescencia y comienzan a aparecer los mecanismo de la inmunidad adaptativa como los anticuerpos IgM que suelen presentarse en una gran proporción de pacientes después del quinto día de enfermedad. También en los casos donde la extravasación de plasma es importante se puede observar un incremente de los valores de hematocrito (fenómeno conocido como hemoconcentración). Si el paciente logra superar este periodo, normohidratado y con controles de salud, iniciara su periodo de **convalecencia** caracterizado por la escalona recuperación del estado general, desaparición de los síntomas y normalización de los parámetros de laboratorio.

Fases de la infección o Etapa febril

La fase febril de la infección por DENV se caracteriza por fiebre repentina de alto grado (≥38°C), acompañado de dolor de cabeza, dolor retroocular, vómitos, mialgias, artralgias (75). Esta fase dura de tres a siete días, después de los cuales la mayoría de los pacientes se recuperan sin complicaciones(76). La cefalea, el dolor retroocular y el dolor articular se presentan en el 60 al 70 % de los casos mientras que el exantemae ocurre en en menos de la mitad de los casos; es más común durante la infección primaria que durante la infección secundaria. Cuando está presente, la erupción suele aparecer de dos a cinco días después del inicio de la fiebre. Es típicamente macular o maculopapular y puede ocurrir en la cara, el tórax, el abdomen y las extremidades (inclusive comprometer palmas y plantas); en general asociada a un intenso prurito**(imagen-2)**.

Los síntomas gastrointestinales incluyen anorexia, náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea, y suelen presentarse con una frecuencia variable en esta etapa de la enfermedad. Los síntomas del tracto respiratorio alto y bajo como la tos, dolor de garganta y congestión nasal son muy infrecuentes por lo que se deben pensar otros diagnósticos

alternativos de la enfermedad. La presencia de estos síntomas tienen un valor predictivo negativo alto para la enfermedad.

Las manifestaciones hemorrágicas se pueden observar tanto en la fase febril como en la fase crítica, el rango y la gravedad de las mismas son variables(77). En adultos puede ocurrir hemorragias clínicamente floridas que incluso comprometan el estado hemodinámico del paciente, mientras que en los niños la hemorragia clínicamente significativa ocurre raramente, por lo general en asociación con un shock profundo y prolongado. En dos estudios se observaron petequias o equimosis espontáneas en aproximadamente la mitad de los pacientes adultos con dengue. Otras manifestaciones menos frecuentes incluyeron hematemesis (15-30%), sangrado menstrual abundante (40 %), melena (5 a 10 %), epistaxis (10 %) o hematuria (78). Las condiciones médicas comórbidas o preexistentes (como la úlcera péptica) pueden aumentar el riesgo de hemorragia. La trombocitopenia significativa no siempre está presente cuando ocurren manifestaciones hemorrágicas y no está claramente relacionada con la gravedad de los sangrados.

En esta etapa la exploración física puede demostrar inyección conjuntival **(imagen-4)**, eritema faríngeo, y en la minoría de los casos linfadenopatía y hepatomegalia. Puede observarse edema facial, petequias y hematomas(79). La prueba de torniquete consiste en inflar un manguito de presión arterial en el brazo hasta un punto intermedio entre la presión arterial sistólica y diastólica durante cinco minutos(80). La piel debajo del manguito se examina en busca de petequias uno o dos minutos después de desinflar el manguito; La presencia de 10 o más petequias nuevas en un área de una pulgada cuadrada se considera una prueba positiva y se relaciona con la fiebre por dengue.

Se ha descrito una curva de fiebre bifásica donde remite la fiebre y luego reaparece aproximadamente uno o dos días después; la segunda fase febril dura de uno a dos días lo cual suele confundirse con el inicio del período crítico o de estado(81).

En esta etapa los hallazgos típicos del laboratorio son la leucopenia y la trombocitopenia (≤100.000 células /mm 3)(86)(87)(82).Los niveles séricos de aspartato transaminasa (GPT) suelen sufrir modestas modestas elevaciones (de 2 a 5 veces el límite superior de los valores normales), siendo muy infrecuentes las elevaciones compatibles con cuadros de hepatitis (de 5 a 15 veces el límite superior de la normalidad) (87)(88). Si bien la suba de las enzimas hepáticas altas es frecuente en la **fase febril**; la disfunción hepática y la disminución del fibrinógeno no se presentan con frecuencia.

Fase crítica o período de estado

Entre los días 3 y 7 de la enfermedad, el médico debe estar atento a los signos de fuga vascular. La fuga vascular sigreduce el volumen intravascular y disminuye la perfusión de órganos. Las manifestaciones clínicas correspondientes pueden incluir vómitos persistentes, dolor abdominal cada vez más intenso, hepatomegalia sensible, desarrollo de derrames pleurales y / o ascitis, sangrado de las mucosas y letargo o inquietud. Los hallazgos de laboratorio que se pueden observar son aumento del hematocrito (≥ 20 por ciento del valor inicial) al mismo tiempo que una disminución rápida del recuento de plaquetas, esto se determina el comienzo de la **Fase Crítica** de la enfermedad (87). Esta fase dura de 24 a 48 horas. Los síntomas más comunes son los digestivos: intolerancia digestiva, náuseas,

vómitos, y dolor abdominal intenso que evidencian la fuga vascular y marcan un cuadro de gravedad, los cuales no deben ser subestimados por el médico tratante.

Los hallazgos al examen físico en la **fase Critica** son importantes para clasificar correctamente al paciente. La hipotensión arterial si bien no es un signo temprano se condice con una fuga vascular importante la cual debe ser tratada con reposición de líquido endovenoso como veremos más adelante. En algunos casos, en la exploración semiológica del abdomen podemos observar la **hepatomegalia** considerada como un signo de alarma que se genera producto de la trasvasacion plasmática a nivel abdominal y generalmente se acompaña de síntomas digestivos como los mencionados previamente. Otro signo que puede estar presente es el signo de Murphy, motivo por el cual se puede confundir con un abdomen agudo de tipo quirúrgico (colecistitis/colangitis) (83)(84). En la fase crítica aparecen con mayor frecuencia las manifestaciones hemorrágicas, principalmente las que afectan a la microvasculatura: gingivorragia, epistaxis y petequias, pero también en los cuadros mas severos el paciente puede presentar sangrados mayores con compromiso hemodinámico. Es importante la exploración minuciosa de la piel en busca de sangrados de la microvasculatura cutánea: hematomas, equimosis, petequias, y la exploración de la mucosa oral en busca de gingivorragia **(imagen-5).**

Las manifestaciones neurológicas más frecuentes en esta etapa son la **somnolencia, confusión o estupor** que están relacionadas con la fuga vascular y la hipotensión además del mal estado general producto mismo de la enfermedad. Otras manifestaciones neurológicas que se ven en esta etapa están relacionadas con un compromiso directo del SNC las cuales las desarrollaremos más adelante.

En los exámenes complementarios las imágenes para la detección de la pérdida de plasma incluyen la ecografía (pleura y abdomen) y la radiografía de tórax. Si bien permite la radiografía de tórax permite observar la presencia de derrame pleural y descartar complicaciones infecciosas sobre agregadas no es un estudio que se suele solicitar de forma rutinaria a los pacientes con dengue. En un estudio que incluyó a 158 pacientes con sospecha de dengue hemorrágico en Tailandia, la ecografía en el momento de la defervescencia fue útil para la detección de derrame pleural y líquido peritoneal; la radiografía de tórax en decúbito lateral derecho también fue útil para la detección de derrame pleural(85)(86). La fuga de plasma se detectó mediante ecografía tan pronto como tres días después del inicio de la fiebre; los derrames pleurales se observaron con más frecuencia que la ascitis. También puede ser evidente el engrosamiento de la pared de la vesícula biliar (92) en algunos casos el compromiso de la vesícula simuló cuadros compatibles con colecistitis aguda.

La trombocitopenia de moderada a grave es común durante la fase crítica; pueden observarse recuentos nadir de plaquetas ≤20.000 células / mm 3 , seguidos de una rápida mejora durante la fase de recuperación(87). También son frecuentes un aumento transitorio del tiempo de tromboplastina parcial activada y una disminución de los niveles de fibrinógeno.

Fase de convalecencia

Durante la fase de convalecencia, la pérdida de plasma y la hemorragia desaparecen, los signos vitales se estabilizan y los líquidos acumulados se reabsorben. Una erupción

adicional, eritematosa confluente (con pequeñas islas de piel sana) a menudo pruriginosas, puede aparecer durante la fase de convalecencia, este no implica ninguna complicación adicional. La fase de recuperación suele durar de dos a cuatro días; los adultos pueden tener una fatiga profunda durante días o semanas después de la recuperación.

(imagen-3): el exantema generalizado es otro signo característico del dengue, no compromete la región palmo plantar y suele ser pruriginoso. Se lo diferencia de las lesiones hemorrágicas por que responden al fenómeno de la vitropresion. **(imagen-4):** paciente con dengue en etapa febril se puede observar en este caso la inyección conjuntival en el ojo derecho un signo relativamente frecuente de la enfermedad**.** **(imagen-5):** Paciente con dengue en fase crítica: podemos observar uno de los sangrados más frecuentes, la gingivorria, unas de las formas más fáciles de observar para evaluar la fragilidad capilar del paciente.

7.b Manifestaciones clínicas menos frecuentes

Las manifestaciones adicionales de infección DENV (típicamente se producen en la fase crítica o posterior) puede incluir insuficiencia hepática, afectación del sistema nervioso central, disfunción miocárdica, lesión renal aguda, y otros. Se ha descrito insuficiencia hepática después de la reanimación de un shock profundo; en muchos casos, puede deberse a una hipoperfusión prolongada más que a un efecto viral directo (92)

Las manifestaciones neurológicas asociadas con la infección por dengue incluyen encefalopatía, meningoencefalitis y convulsiones; pero también se han descrito secuelas neurológicas permanentes(88). En series de casos, la frecuencia de estas manifestaciones es aproximadamente del 1% del total de casos(89). Las manifestaciones clínicas neurológicas mas comunes son la fiebre, cefalea, estupor y letargo. En tales casos, el diagnóstico ha sido respaldado por pruebas serológicas (IgM en LCR), cultivo o RT-PCR en el líquido cefalorraquídeo(88). Otros síndromes neurológicos de los que se ha informado que están potencialmente asociados con la infección por DENV son el ACV, las mononeuropatías, las polineuropatías, el síndrome de Guillain-Barré y la mielitis transversa (92) (94) (95).

Se han descrito manifestaciones cardiovasculares que incluyen deterioro del miocardio, arritmias y, en ocasiones, miocarditis fulminante en pacientes con infección por

DENV (90). Un estudio que incluyó a 81 pacientes con DENV en Brasil observó niveles elevados de troponina o péptido natriurético de tipo B en el 15% de los casos(91). Se han detectado mediante estudios histopatológicos antígenos de dengue en miocardiocitos provenientes de pacientes con miocarditis y diagnóstico de dengue (97) (92).

Se ha informado de insuficiencia renal aguda en hasta el 3 % de los casos de dengue. Los mecanismos pueden incluir shock hipovolémico, rabdomiólisis, glomerulonefritis y necrosis tubular aguda (93).

La coinfección puede ocurrir siendo un fenómeno poco frecuente y no relacionado con el nivel de glóbulos blancos circulantes. Los factores de riesgo incluyen comorbilidades preexistentes y enfermedad grave en el momento de la presentación. La fiebre persistente después de la etapa febril, la presencia de leucocitosis y los signos y síntomas que se pueden asociar a un foco bacteriano (poco frecuentes del dengue) deben impulsar la evaluación de la coinfección bacteriana(94).

7.c Progresión Clínica a Dengue grave y SSD.

Los factores asociados a una progresión de la enfermedad a cuadros clínicos más graves (DG) está determinado por cuatro variables: predisposición del huésped a presentar formas clínicas graves, comorbilidades (obesidad, edad avanzada, diabéticos etc) y la virulencia intrínseca del virus(4). El tratamiento inadecuado es un factor que se asocia a una mala progresión clínica: la hidratación insuficiente del paciente y el uso de medicaciones contraindicadas (aspirinas, intramusculares, diclofenac, ibuprofeno)(95).Finalmente, las infecciones secundarias separadas en el tiempo por más de 18 meses representan el mayor riesgo de progresión a dengue grave (96)(97).

8. *Esquemas de clasificación*

En 1997, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó un esquema de clasificación que describe tres categorías de infección sintomática por DENV: dengue (FD), dengue hemorrágico (FHD) y síndrome de Shock por dengue (SSD)(98). En primer lugar, el término dengue hemorrágico sugiere que la hemorragia es la manifestación cardinal del dengue grave; sin embargo, la pérdida de plasma que conduce a la depleción del volumen intravascular y potencialmente al shock es la característica más específica del dengue grave y es actualmente el foco de las guías y algoritmos de manejo clínico (99)(100). Además, algunos pacientes con enfermedades graves que requieren intervención médica (como recibir hidratación endovenosa) no cumplen con todos los criterios de dengue hemorrágico por lo actualmente se cree que el uso de la definición de la OMS de 1997 subestima la carga clínica de la infección por DENV(101).

En respuesta a un amplio llamado para reevaluar la clasificación de la enfermedad del dengue, en 2009 la OMS publicó un esquema de clasificación revisado que describe las siguientes categorías: dengue sin signos de alarma **(DSA)**, dengue con signos de alarma **(DCA)** y dengue grave **(DG)** (102). Este esquema se propuso para enfatizar el reconocimiento temprano de las señales de alarma y así optimizar las decisiones de clasificación y manejo clínico. Esta última clasificación propuesta por la DENCO es actualmente la más aceptada

mundialmente. La OMS emitió documentos adicionales sobre el manejo del dengue en 2011 y 2012 (103).

8.b Clasificación de la OMS 2009

En 2009, la Organización Mundial de la Salud introdujo un esquema de clasificación revisado que consta de las siguientes categorías (108):

Dengue sin signos de alarma (DSA) : se puede realizar un diagnóstico presuntivo de infección por dengue en el contexto de residencia o viaje a un área endémica en un paciente con fiebre mas dos de los siguientes hallazgos clínicos:
Náuseas vómitos
Sarpullido
Dolor de cabeza, dolor ocular, dolor muscular o dolor articular
Leucopenia
Prueba de torniquete positiva
Estas manifestaciones clínicas se describen más arriba.

Dengue con signos de alarma (DCA) : el dengue con signos de advertencia de infección grave incluye la infección por dengue como se define anteriormente, mas de cualquiera de los hallazgos:
Dolor o sensibilidad abdominal
Vómitos persistentes
Acumulación clínica de líquido (ascitis, derrame pleural)
Sangrado de las mucosas
Letargo o inquietud
Hepatomegalia> 2 cm
Aumento del hematocrito junto con una rápida disminución del recuento de plaquetas
Los problemas relacionados con la fuga de plasma se describen más arriba.

Dengue grave (DG)
Shock hipovolémico por fuga de plasma
Sangrado que compromete la vida del paciente.
Daño a orgánico importante.
Distres respiratorio por acumulación de líquidos.

8.c Análisis comparativo de las clasificaciones propuestas por la OMS

Con el objetivo de evaluar la utilidad diagnóstica de ambas clasificaciones propuestas por la OMS, muchos estudios evaluaron la utilidad de ambas para diagnosticar, describir, y diferenciar el dengue de otros síndromes febriles agudos. Todos los estudios que abordan esta cuestión coinciden en que la definición de la OMS -2009 describe mejor al dengue tal como ocurre clínicamente. En el estudio prospectivo de *Barniol y Col* (104) realizado en 18 países concluye que el 13,7% de los casos no se pudieron clasificar de acuerdo con la clasificación OMS-1997 (DF / DHF / DSS), en comparación con 1,6 % para la clasificación OMS-2009. En este estudio hasta un 32,1% de los casos graves de dengue no se pudieron

clasificar en el sistema de la OMS-1997. En otro estudio (105), confirma que ambas definición son discordantes para definir enfermedad grave siendo la clasificación de la OMS-2009 mas exacta (p: 0,001).

Varios trabajos tienen como finalidad evaluar que clasificación identifica mejor a los casos de dengue grave (74)(106)(107)(80). La clasificación de la OMS-1997 tiene una sensibilidad entre el 24,8% y el 74% (estudios prospectivos) la especificidad alcanza el 100% en varios estudios. La clasificación OMS-2009 presentó en estudios prospectivos (77) (78) una sensibilidad del 88% y especificidad del 98%.En resumen, comparando ambas clasificaciones, la mayoría de los estudios coincide en que la clasificación OMS-2009 evalúa mejor la gravedad de la enfermedad.

En cuanto a su aplicabilidad en el triage de urgencias en contexto de brotes epidémicos el estudio de Varonil y Col (74) mediante cuestionarios a médicos de 18 países, concluye que la clasificación OMS-2009 "era fácilmente aplicable en la práctica clínica, también se la considera útil para el triaje y el manejo de casos por parte del personal médico, por sobre la clasificación OMS-1997.

Otro trabajo que analiza historias clínicas de 274 casos confirmados de dengue (108), cuando se usó la clasificación OMS-1997 se necesitó rehidratación endovenosa y observación cuidadosa en 94 casos en comparación con 189 casos cuando se utilizó la clasificación OMS-2009 como criterios. Del mismo modo, ***Gan V y Col***. (105) calcularon que el requerimiento de hospitalización aumento de 17.0% a 51.3% usando la clasificación OMS-2009.

9. *Diagnóstico*

Abordaje clínico del paciente: el diagnóstico de infección por DENV debe sospecharse en individuos con SFA y manifestaciones típicas tales como: fiebre, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, dolor retroorbitario, mialgia, artralgia etc; y antecedentes residencia o viaje en las últimas dos semanas a un área con transmisión viral activa. Por lo general, se establece clínicamente un diagnóstico provisional de infección por dengue. En regiones con una alta incidencia de infección por dengue, el valor predictivo positivo de los criterios clínicos es alto, siendo suficientes para tomar las conductas terapéuticas correspondientes.

Las pruebas de laboratorio El diagnóstico de laboratorio de la infección por DENV se establece directamente mediante la detección de los componentes virales en el suero o indirectamente por serología. La sensibilidad de cada análisis de laboratorio dependerá de los días de enfermedad que presente el paciente al momento del análisis. Durante la primera semana de enfermedad, el diagnóstico de infección por DENV puede establecerse mediante la detección de ácido nucleico viral en suero mediante el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) o a través de la detección de antígeno viral mediante proteína no estructural 1 (NS1). En la infección primaria, la sensibilidad de la detección de NS1 puede superar el 90 % y la antigenemia puede persistir durante varios días después de la resolución de la fiebre; en la infección secundaria, la sensibilidad de detección de NS1 es menor (60 a 80 %)(109) (110).

La detección de IgM en una sola muestra obtenida de un paciente con un síndrome clínico compatible con dengue se utiliza ampliamente para establecer un diagnóstico presuntivo. La probabilidad de detección de IgG depende de si la infección es primaria o secundaria. La infección primaria por dengue se caracteriza por una respuesta de anticuerpos lenta y de títulos bajos; la IgG es detectable a títulos bajos a partir de siete días después del inicio de la enfermedad y aumenta lentamente. La infección secundaria por dengue se caracteriza por un rápido aumento en el título de anticuerpos que comienza cuatro días después del inicio de la enfermedad, con una amplia reactividad cruzada. Las pruebas serológicas no son fiables para el diagnóstico de la infección aguda en personas que han sido vacunadas con una vacuna contra el dengue en los meses previos (111). Además, el diagnóstico serológico del dengue puede confundirse en el contexto de una infección o vacunación reciente con un flavivirus relacionado antigénicamente, como el virus de la fiebre amarilla o el virus de la encefalitis japones.

Las proteínas virales del dengue pueden detectarse en muestras de tejido mediante tinción inmunohistoquímica (112). Los tejidos del hígado parecen tener un alto rendimiento. La biopsia rara vez está indicada en pacientes con sospecha de infección por DENV, por lo que este método generalmente se usa sólo para el diagnóstico post mortem.

9.a Aislamiento viral

Para el aislamiento del virus, las muestras clínicas tomadas de los pacientes se cultivan en una variedad de líneas celulares de mosquitos (células AP-61, Tra-284, AP64, C6 / 36 y CLA-1) o de mamíferos (LLCMK2, Vero y BHK -21 células),o en mosquitos vivos . Las muestras de sangre tomadas de pacientes infectados en los primeros 5 días de enfermedad dan los resultados más exitosos. Sin embargo, el aislamiento del virus de pacientes con infección secundaria se hace más difícil por la rápida producción de anticuerpos al principio de la fase aguda de la enfermedad que forman inmunocomplejos con el virus circulante. Aunque la detección de DENV por aislamiento del virus es definitiva, no es particularmente práctica y compleja (113).

9.b Reacción en cadena de la polimerasa

La detección por PCR con transcriptasa reversa (RT-PCR) del ARN viral del dengue extraído de sangre, suero o plasma proporciona un método rápido, sensible y específico para la confirmación de la infección por dengue. Se han desarrollado, validado y utilizado varios cebadores y protocolos en RT-PCR convencional y RT-PCR en tiempo real. La sensibilidad de la RT-PCR convencional varía del 48,4 al 98,2% y tiene un límite de detección de 1-50 unidades formadoras de placa (UFP). Estos ensayos emplean cebadores que se unen a regiones conservadas conocidas del genoma de DENV para evitar resultados falsos negativos debido a mutaciones espontáneas esperadas en la replicación del genoma viral. También se ha explorado el uso de métodos in silico para desarrollar un cóctel de cebadores que se unen a casi todos los DENV con secuencias conocidas, aunque aún no se ha llevado a cabo la validación en un entorno clínico. La sensibilidad de la RT-PCR también depende en gran medida de la breve ventana de oportunidad que coincide con el período virémico, que puede durar hasta 8 días desde el inicio de la enfermedad. Sin embargo, la RT-PCR rara vez es

positiva en un caso de dengue después de 6 días desde el inicio de la enfermedad .La RT-PCR en tiempo real basada en fluorescencia tiene una mejor sensibilidad informada (58,9-100%) y un límite de detección (0,1-3,0 UFP) debido a la sensibilidad del detector de fluorescencia dentro del termociclador. También se han desarrollado RT-PCR multiplex que diferencian los serotipos de DENV en un único ensayo. Se descubrió que una técnica que utiliza una única mezcla de reacción a temperatura constante (amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos (NASBA) es muy sensible (98,5%) y específica (100%) con un límite de detección de <25 UFP / ml . NASBA puede ser muy útil y aplicable durante el diagnóstico de campo en brotes donde los termocicladores no están fácilmente disponibles.

La extracción de ARN de sangre completa puede ser más sensible (90,0%) que el suero o el plasma (62,0%) en el mismo conjunto de muestras. Además de las muestras de sangre, la RT-PCR también se puede utilizar para detectar ARN de DENV en tejidos, incluidas las muestras fijadas con formalina. Aunque la RT-PCR generalmente requiere experiencia en técnicas moleculares y equipo costoso, los protocolos modificados que utilizan termocicladores de aceleración rápida se pueden usar junto con operadores recién capacitados durante situaciones de emergencia, como para diferenciar el dengue del SARS durante un brote , siempre que se siga un estricto procedimiento operativo estándar. El ARN viral del dengue también se puede detectar en muestras de orina y saliva utilizando RT-PCR en tiempo real. En la orina, se encontró que las muestras recolectadas entre el día 6 y el día 16 después del inicio de la enfermedad tenían tasas de detección más altas (50-80%) en comparación con las muestras del día 1 a 3 (25-50%) . Por tanto, la RT-PCR para DENV en orina puede ampliar la ventana de oportunidades para la detección de ARN viral en comparación con las muestras de sangre (hasta el día 8). Sin embargo, el nivel de ARN viral en muestras de orina y saliva es bajo (1 × 101-5 × 101 UFP / ml) en comparación con las muestras de suero correspondientes (7,9 × 102-1,9 × 105 UFP / ml)(114) .

9.c Captura de antígeno NS1

La proteína viral NS1 se secreta a partir de las células infectadas circulando en la sangre de las personas infectadas desde el inicio de los síntomas hasta 9 días o más después del inicio de la enfermedad. La NS1 puede interpretarse como un marcador sustituto de la viremia, y se ha demostrado que el nivel de NS1 se correlaciona con el título viral (78)(115). La detección de NS1 en la sangre del paciente mediante un método ELISA de captura de antígeno se describió por primera vez en 2000. En infecciones secundarias se encontraron que los niveles de NS1 ≥ 600 ng / ml dentro de las primeras 72 horas de la enfermedad eran un fuerte predictor de progresión a una enfermedad más grave (116). Estos primeros informes llevaron al desarrollo comercial de ELISA de captura NS1 y pruebas rápidas para su uso masivo en contexto de brotes (78)(115)(67). El desarrollo comercial de NS1 como herramienta de diagnóstico ha revolucionado el diagnóstico del dengue, ya que ha proporcionado ensayos simples y de baja tecnología que tienen una alta sensibilidad y especificidad. Estos ensayos de detección se han convertido ahora en el nuevo estándar para el diagnóstico del dengue (78)(115). A pesar del valor predictivo sugerido de NS1 como marcador de progresión de la enfermedad, la cuantificación requerida sigue siendo competencia de la investigación académica, y todas las pruebas comerciales sólo proporcionan lecturas cualitativas positivas o negativas. Una limitación de la detección de

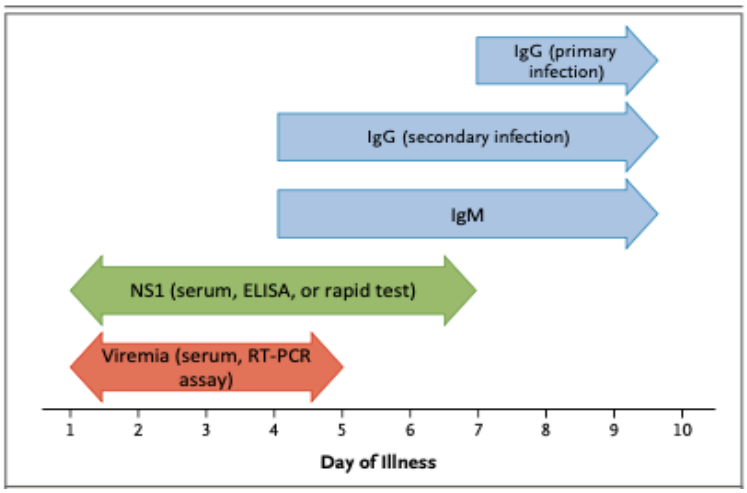
NS1 para los pacientes que experimentan una infección secundaria es el rápido aumento de los anticuerpos con la formación de inmunocomplejos con la proteína NS1 que impide su detección. En las zonas donde existe circulación de virus dengue, un resultado positivo por NS-1 en un paciente con un cuadro clínico compatible, confirma la infección por dengue.

9.d Serología

Existen numerosos enfoques disponibles para el diagnóstico serológico, incluidos los ensayos de inhibición de la hemaglutinación, fijación del complemento, las pruebas de de Western Blot, inmunofluorecencia indirecta pruebas de neutralización por reducción de placa, y prubas de IgM e IgG por ELISA, siendo este ultimo el mas utilizado. Como ocurre con todos los ensayos basados en la detección de anticuerpos, el período temprano de la enfermedad aguda suele presentar una ventana de detección negativa. No obstante, los ELISA de captura de IgM e IgG de alto rendimiento se han vuelto relativamente rutinarios, particularmente después de la automatización del ensayo. **La IgM** puede aparecer desde el día 3-5 en la infección primaria, alcanzando su punto máximo varias semanas después de la recuperación y permaneciendo en niveles detectables durante varios meses. Generalmente, la **IgG** no aparece durante la fase aguda de la enfermedad primaria. Sin embargo, durante la infección secundaria, hay una rápida respuesta de IgG a epítopos compartidos entre los serotipos virales infectantes, apareciendo IgG tan pronto como 3 días después del inicio de la enfermedad.

La detección de la infección por DENV mediante serología es complicada en áreas del mundo donde circula más de un flavivirus debido a la reacción cruzada por epitopos compartidos en la proteína E de los flavivirus. Para reducir estos resultados falsos positivos, la serología de IgM e IgG debe combinarse con la captura de antígeno NS1 (117). Es por esto que actualmente las pruebas serologías se utilizan para screening de la enfermedad y para establecer diagnósticos presuntivos, pero no permiten por si solas confirmar la enfermedad por dengue.

Otro ensayo de detección de anticuerpos es **la prueba de neutralización por reducción de placa (PRNT).** Este ensayo mide los anticuerpos neutralizantes que se se encuentran en el suero del paciente inhibiendo la infección por DENV en cultivos celulares (118). El estudio consiste en comparar la capacidad neutralizante del suero del paciente frente diferentes cultivos celulares infectados con los flavivirus circulantes en la región, entonces cuanto más eficiente es la neutralización más específicos son los anticuerpos presentes para ese virus. Tanto la elaboración del ensayo como la interpretación del mismo requiere de especialistas y de un laboratorio de alta complejidad, siendo muy laboriosa su realización. Por estas razones, el PRNT no se utiliza en diagnósticos de rutina. Para superar estas limitaciones, se ha desarrollado una nueva generación de métodos basados en PRNT, como el ensayo de microneutralización puntual inmunoabsorbente ligado a enzimas (114) y la prueba de microneutralización basada en ELISA .



(Figura-10) Herramientas diagnosticas según el día de síntomas del paciente con sospecha de dengue. La elección de un correcto método diagnóstico según el día de enfermedad en el que se encuentra el paciente es esencial tanto para confirmar el diagnóstico como para descartarlo. El la Fase Febril (típicamente los primeros cinco días) se deben utilizar métodos directo como la RT-PCR , aislamiento viral, o antígeno NS-1. Una vez finalizada esta etapa los métodos indirectos o serológicos una ves que inicia la inmunidad adaptativa son los métodos de elección. Ningún método serológico con un resultado positivo permite confirmar la enfermedad y estos para tener un diagnóstico definitivo deben obtener seroconversión con muestras pareadas. El antígeno NS-1 tiene valor diagnóstico en esta etapa por lo menos en los primeros 7-10 días, si bien como se menciono la sensibilidad va disminuyendo con los días de enfermedad, un resultado positivo nos permite confirmar el diagnóstico en áreas de circulación viral

10. *Diagnósticos Diferenciales*

Los diagnósticos diferenciales de dengue se establecen a partir de las causas de síndrome febril agudo. El SFA es un término epidemiológico que se utiliza para englobar la presentación clínica de una serie de agentes infecciosos de relevancia epidemiológica. Típicamente el SFA se caracteriza por una duración de la fiebre **menor a siete días**, **sin un foco infeccioso típico** o claro, dicha presentación está asociada a un antecedente epidemiológico que permite establecer una sospecha etiológica del síndrome. Las causas de SFA pueden ser muy variadas según cada escenario epidemiológico, pudiendo ser producidas por virus, hongos, bacterias o parásitos como también por causas no infecciosas como fenómenos inmunológicos (Purpura de Schölein Henoch, enfermedad de Reiter, Lupus etc) e incluso Patologias Oncológicas.

Como ya se menciono, una correcta anamnesis orientada a exposiciones en viajeros, exposición a animales, contexto endémico del paciente, exposición laboral, actividad recreacionales del paciente y la descripción de la cronología sintomática de la enfermedad, como por ejemplo la curva térmica (bifásica, intermitente, vespertina etc) son las herramientas más importantes para plantear correctamente dichos diagnósticos diferenciales. A continuación se describe las patologías infecciosas mas importantes frecuentemente se observan como causas de SFA en la región.

Paludismo: causada por P*lasmodium spp.* (hemoparásitos del género *apicomplexa*) y transmitida por su principal vector, mosquitos de la familia Anopheles spp,en zonas endémicas tropicales . El paludismo es una causa de síndrome febril agudo de alta letalidad, caracterizada por fiebre, malestar general, náuseas, vómitos, dolor abdominal, ictericia, y anemia hemolítica. En la mayoría de los casos en área endémica, la fiebre tiene un patrón

denominado terciario o cuaternario que se caracteriza por curvas térmicas intermitentes con picos de fiebre cada 48 o 72 hs. Este fenómeno se produce por la liberación de los parásitos a la sangre con la ruptura del eritrocito, ciclo que se cumple según las diferentes especies de plasmodium cada 48 o 72 hs, y no siempre se observa en personas no inmunes, como viajeros a áreas endémicas. La sospecha diagnóstica de Malaria o Paludismo **siempre** se debe presentar **en toda persona con síndrome febril agudo que resida o haya viajado a zona endémica**. El diagnóstico confirmatorio se establece mediante la visualización de parásitos en el frotis periférico lo que permite no solo la clasificación de género y especie por las características de infiltración de los eritrocitos y la presencia de formas sexuadas sino también por la carga de parasitemia en sangre lo que tiene implicancias en su manejo y control evolutivo. Otros métodos diagnósticos incluyen test rapidos y métodos moleculares, estos últimos puede estimar resistencia a antimalaricos y parasitemia en sangre(119).

Leptospirosis: la leptospirosis es una zoonosis de amplia distribución mundial producida por una bacteria del género *leptospira spp*(120) transmitida por la orina de mamíferos infectados (principalmente los roedores que habitan en el ambiente urbano y caninos, asi como gran variedad de animales en el ambiente rural). El ser humano se contagia al estar expuesto a la orina infectada del reservorio o animal enfermo mediante un hecho accidental, sin embargo es muy común la exposición laboral en personas de riesgo como veterinarios, militares y trabajadores rurales etc. (121)(122). La enfermedad se presenta en forma de brotes epidémicos en contexto de inundaciones usualmente en zonas carenciadas donde puede llegar a una tasa de ataque del 40%(123). El período de incubación medio es 10 días con extremos entre dos y 30 días.

La enfermedad tiene un comienzo agudo (fase prodrómica) seguida del período de estado en el que distinguimos tres formas clínicas: síndrome febril anictérico, ictérica o síndrome de Weil y la hemorragia pulmonar. En la forma ictericia se produce por colestasis intrahepática (124). La insuficiencia renal puede adoptar diferentes modalidades: desde aumentos discretos y çç hasta una nefropatía severa por necrosis tubular aguda(125). Las hemorragias varían desde escasas petequias a púrpura o sangrados de mucosas debidas a vasculitis y/o trombocitopenia. Entre las formas anictéricas de leptospirosis se puede observar la meningitis a líquido cefalorraquídeo claro (126) y la hemorragia Pulmonar por Leptospirosis (HPL): un cuadro con alta mortalidad que conduce rápidamente al distrés respiratorio. A diferencia de las otras formas de leptospirosis graves, **no se asocia** a ictericia, nefropatía, meningitis o trombocitopenia(127)(128). La HPL debe diferenciarse del síndrome pulmonar por hantavirus, por sus similitudes clínicas y epidemiológicas (129)(130). Los datos de laboratorio más constantes son: leucocitosis con neutrofilia y/o desviación a la izquierda con eritrosedimentación elevada. El diagnóstico clínico es habitualmente serológico: macroaglutinación (TR) que mide IgM y microaglutinación (MAT) de referencia y mide IgG e IgM.

Síndrome Cardio-Pulmonar por hantavirus (SCPH): A diferencia de Europa y Asia donde el linaje Euroasiático produce cuadros de fiebres hemorrágicas asociadas a insuficiencia renal conocida como Fiebre hemorrágica con Síndrome Renal (FHSR), los serotipos de hantavirus reconocidos en las Américas se relacionan con el denominado Síndrome cardio-pulmonar por hantavirus (SCPH): neumopatía grave frecuentemente acompañada por colapso cardiocirculatorio. Los hospedadores son roedores exclusivamente americanos de la subfamilia *Sigmodontinae*(131). Las partículas virales eliminadas en los materiales biológicos de los roedores (orina, materia fecal, lágrimas) forman aerosoles que

son inhalados por el hombre. Se han descripto casos de transmisión Humano-humano para el virus ANDV(132). Luego de un período de incubación variable que puede llegar hasta los 40 días(133), aparece la fase de inicio o prodrómica (SFA indistinguible de otros) a la que luego de 3 a 8 días sigue la fase cardiorrespiratoria. Ésta es debida, como en el dengue, a un mecanismo de extravasación plasmática, pero localizado en pulmón. En algunos pacientes puede observarse: nefropatía, hiperemia conjuntival, odinofagia y petequias. La ictericia es rara(134). El laboratorio indica en general: leucocitosis con neutrofilia y granulaciones tóxicas y la presencia de linfomonocitos (inmunocitos). Trombocitopenia. (135). Una IgM positiva o seroconversión de IgG por ELISA son diagnóstico confirmatorio.

Enfermedad por Arenavirus: El virus Junín es causa de la fiebre hemorrágica Argentina, patología regional de la Pampa Húmeda transmitida por las secreciones de roedores, principalmente, *Calomys musculinus*. En los antecedentes epidemiológicos es importante valorar el lugar de residencia, antecedentes de viaje en los últimos 30 días y actividades laborales de riesgo(136). La enfermedad se inicia en forma más insidiosa que las anteriores pero muestra una fase de inicio muy similar. Si el paciente progresa al período de estado aparecerán las manifestaciones hemorrágicas (cutáneas, mucosas o viscerales). El laboratorio es característico: leucopenia con linfomonocitosis, VSG baja, trombocitopenia y según las hemorragias Hct bajo.(137) Es infrecuente en los primeros momentos de enfermedad la ictericia. La falla renal puede ser prerrenal o por nefritis intersticial.

Enfermedades por rickettsias: Nos referimos a las denominadas fiebres manchadas, cuyo paradigma es la enfermedad causada por *R. rickettsi*. La transmisión se opera por garrapatas duras (ixodes) las cuales se infectan al alimentarse con sangre de los hospedadores. Los estadios intermedios, larvas y ninfas, pueden actuar como vectores, y en estos casos es difícil reconocer en el humano la puerta de inoculación (138)(139). En nuestro país se describieron dos enfermedades por ricktesia: la fiebre manchada por *R.rickettsi*, la cual es endémica en el continente Americano, y está presente en nuestro país en la región Norte del país (Salta, Jujuy, Chaco) descripta por primera vez por *Ripoll y Col*(140). En el caso de la fiebre manchada por *R.parkeri* es una enfermedad de distribución mundial que ha sido descripta por primavera vez en nuestro país en el 2005(141) y abarca la región del Delta del Paraná y Pampa Húmeda, pero recientes publicaciones indicarían que su territorio de distribución es aún mayor. Un cuadro clínico de inicio, común a la mayoría de las rickettsiosis, incluye hipertermia, mialgias, cefaleas, dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea, luego de una semana (promedio) de la inoculación. La escara de inoculación, no se observa en la infección por *R. rickettsi*. Entre el quinto y séptimo día de iniciado el cuadro, se produce en la mayoría de los pacientes una erupción. En la infección por *R. rickettsii* es maculopapular y petequial, aparece en las palmas y plantas y evoluciona en forma centrípeta. La púrpura suele ser una manifestación grave y pueden producirse lesiones distales en los pulpejos por endarteritis. El compromiso multisistémico es de variada gravedad (149). Son frecuentes las manifestaciones neurológicas: meningitis a líquido claro, signos neurológicos focales y estupor y confusión.

Chikungunya: el virus chikungunya proveniente de la familia *Bunyaviridiae* se encuentra en la región de las Américas a finales del 2013. Arbovirosis con tropismo oseteoarticular tiene tres formas clínicas de presentación: aguda, subaguda y crónica. Su forma de presentación aguda se caracteriza por ser un síndrome febril de corta duración con gran compromiso articular (Chikungunya en lengua africana *"el que se inclina"*) En los estudios que comparan las dos enfermedades, los pacientes con chikungunya informaron

algo más de dolor articular, mientras que el dolor abdominal y la leucopenia fueron más frecuentes en los pacientes con dengue. La hinchazón de las articulaciones es muy específica de chikungunya. El diagnóstico de infección por virus chikungunya se establece mediante serología o RT-PCR (142).

Zika: Arbovirosis pertenecientes a la familia *Flaviviridiae,* la presentación como síndrome febril agudo se observa en la minoría de los infectados. El cuadro típico de presentación es un cuadro de mialgias, exantema maculopapular, conjuntivitis y artralgias, y menos del 50% de los pacientes presenta fiebre. A diferencia de la infección por DENV, el ZIKV se asocia comúnmente con conjuntivitis y las adenopatias. El diagnóstico de infección por el virus del ZIKV se establece mediante serología o RT-PCR (143).

Parvovirus B19: más frecuente como diagnóstico diferencial en niños pero también su forma de presentación en adultos puede asimilarse al dengue, el parvovirus se presenta con mayor frecuencia como una enfermedad febril leve caracterizada por una erupción malar eritematosa seguida de una erupción de encaje sobre el tronco y las extremidades. En los adultos, el parvovirus puede presentarse como una artritis aguda que afecta las pequeñas articulaciones de las manos, muñecas, rodillas y pies, con o sin sarpullido. Las alteraciones en el laboratorio más frecuentes son la anemia y la leucopenia. El diagnóstico puede establecerse mediante serología o pruebas de ácido nucleico(144).

Fiebre tifoidea: El organismo clásicamente responsable del síndrome de fiebre entérica es *Salmonella entérica* serotipo Typhi (anteriormente *S . Typhi*). Otros serotipos de *Salmonella*, en particular los serotipos de *s. entérica* paratyphi A, B o C, pueden causar un síndrome similar; sin embargo, generalmente no es clínicamente útil o posible predecir de manera confiable el organismo causante basándose en los hallazgos clínicos. Es más prevalente en áreas empobrecidas que están superpobladas y con un acceso deficiente al saneamiento. Las manifestaciones clínicas de la fiebre tifoidea incluyen fiebre, bradicardia, dolor abdominal y exantema ubicado en tronco conocido como rosácea tifoidea, los síntomas digestivos pueden ir desde la diarrea a la constipación. Cuando la enfermedad progresa y se cronifica afectando el sistema reticuloendotelial produce una sintomatología variada con complicaciones que pueden poner en peligro la vida del paciente. El diagnóstico se establece mediante el cultivo de heces y / o hemocultivo. Si bien la fiebre tifoidea y el dengue solapan regiones endémicas el compromiso músculo esquelético del dengue así como la marcada plaquetopenia y leucopenia pueden orientarnos al diagnóstico de la enfermedad(145).

Fiebre amarilla: la fiebre amarilla es una arbovirosis endémica de América y África de origen zoonótico con reservorio en primates la cual se transmite del primate (monos aulladores) al hombre en su ciclo selvático por mosquitos del género sabettes y en su ciclo urbano (hombre-hombre) principalmente por el *A.aegypti* (146). Hasta un 85% de los casos se presentan de forma asintomática u oligosintomática (**Fase Febril**) caracterizada por fiebre, mialgias, artralgias. En el resto tras un breve período de remisión inicia la **Fase Crítica** o conocida como **Fase Tóxica** dando la característica bifásica de la enfermedad, donde se presentan sus mayores complicaciones como las diátesis hemorrágicas, los sangrados de mucosas mayores (hematemesis principalmente) el compromiso neurológico es constate en esta fase lo que motiva el nombre de la misma caracterizando el estupor y la toxicidad en la que se encuentra el paciente. La ictericia es un hallazgo típico de la enfermedad producida por el infiltrado viral y su respuesta inmunológica a nivel hepática puede observar en el

laboratorio: leucopenia, plaquetopenia, elevación de las enzimas hepáticas, coagulopatía y CID(147).

Infección aguda por VIH: una variedad de síntomas y signos pueden ocurrir en asociación con la infección aguda por VIH; los hallazgos más comunes son fiebre, linfadenopatía, dolor de garganta, erupción cutánea, mialgia / artralgia y dolor de cabeza. Otras manifestaciones incluyen ulceración mucocutánea dolorosa y meningitis aséptica. Las pruebas de diagnóstico consisten en un inmunoensayo del VIH (idealmente, un inmunoensayo combinado de antígeno / anticuerpo) y una prueba virológica del VIH.

Influenza: los síntomas de la infección por el virus de la influenza incluyen la aparición repentina de fiebre, dolor de cabeza, mialgia y malestar, acompañados de manifestaciones de enfermedades del tracto respiratorio, como tos, dolor de garganta y rinitis. La principal diferencia con el dengue es la **afección del tracto respiratorio superior** con congestión y rinitis, situación totalmente atípica en el dengue que orienta a descartarlo como posible diagnóstico etiológico. El diagnóstico se establece mediante pruebas moleculares o inmunoflourecenscia de una muestra nasofaríngea mediante hisopados(148).

Enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19): En muchas región endémicas para dengue el fenómeno de "sindemia" que se produce actualmente con la pandemia de Covid-19 presentó un desafío para las médicos que trabajan en la primer nivel de atención para poder diferenciar clínicamente ambas enfermedades. Sin embargo, se pueden observar ciertas diferencias entre ambas: el COVID-19 incluyen fiebre, tos y / o disnea; también son comunes otras características, incluidos síntomas del tracto respiratorio superior, mialgias, diarrea y pérdida del sentido del olfato o del gusto. A diferencia del covid el dengue casi de manera constate no compromete el tracto respiratorio, ni presenta anosmia o disgeusea. En el laboratorio ambos pueden presentar leucopenia pero la plaquetopenia es más característica de dengue. El diagnóstico se establece mediante pruebas moleculares de una muestra nasofaríngea; también hay otras herramientas de diagnóstico disponibles(149).

11. *Tratamiento*

En la actualidad, no existe una terapia antiviral directa disponible contra el virus del dengue, por lo que el tratamiento es de sostén, siendo el principal objetivo mantener un volumen intravascular adecuado y evitar las complicaciones hemorrágicas de la enfermedad. A continuación describimos la pautas de tratamiento publicadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS; 2009)(150) y aceptadas por el ministerio de Salud de la Nación en su guía para el equipo de salud de infección por dengue (151)(152).

Es importante para establecer un correcto tratamiento, para ello es importante clasificar a los pacientes según el criterio de gravedad. A fines prácticos podemos dividirlos en los siguientes grupos:

Categoría de la Clasificación (OMS-2009)	Lugar de tratamiento
DSA sin comorbilidades	Ambulatorio

DSA con comorbilidades	Internación para observación o seguimiento estricto
DCA	Seguimiento ambulatorio estricto o internación en sala general
DG	Internación en Unidad de terapia Intensiva

En paciente sin comorbilidades y sin SA se debe indicar reposo y reposición de líquidos principalmente agua y otras bebidas también se puede hidratar con sales de rehidratación oral para una correcta reposición electrolítica. Es importante que el paciente contabilice la cantidad de agua y líquidos ingerida y que esta no sea menor a 3 litros/día, volumen que puede variar según cada individuo y las pérdidas que presente. Se puede indicar Paracetamol para el dolor y la fiebre, están contraindicados los otros antiinflamatorios no esteroides (diclofenac, ibuprofeno, naproxeno, aspirina), y corticoides. Se debe evitar el uso inapropiados de antibióticos, tranquilizando al paciente y explicándole la naturaleza viral de la enfermedad. También está contraindicada la utilización de medicamentos analgésicos o antipiréticos por vía intramuscular para el control de los síntomas, porque pueden producir complicaciones severas como sangrados e infección. En lo posible estos pacientes deben ser evaluados en forma diaria por algún integrante del equipo de salud siempre buscando SA particularmente desde el inicio de la caída de la fiebre hasta 48 horas después.

En los pacientes que se presenten sin SA, pero que tengan alguna comorbilidad asociada a una evolución tórpida el tratamiento debe ser siempre hospitalario para su control clínico estricto pudiéndose optar por la reposición de fluidos por vía oral o endovenosa según el criterio del medico tratante**.** Si el paciente se encuentra en un servicio de salud que cuenta con laboratorio, siempre que sea posible, se le debe tomar una muestra de sangre para hematocrito antes de iniciar el tratamiento. En los pacientes adultos reponer líquidos por vía intravenosa utilizando soluciones cristaloides, como solución salina isotónica al 0.9% o Ringer Lactato (no Dextrosa) a 10 ml/Kg/hora y, posteriormente, mantener el ritmo infusional o disminuirlo de acuerdo a la respuesta clínica del paciente.

La expansión debe ser controlada de acuerdo a las comorbilidades que presenta el paciente, que puedan requerir un seguimiento más estricto (presencia de insuficiencia cardíaca, la insuficiencia renal, signos de preeclampsia o eclampsia).

Luego de esa carga de cristaloides, se debe realizar la primera reevaluación al paciente: Si persiste con signos de alarma, se debe repetir el procedimiento 1 ó 2 veces más, hasta la mejoría clínica laboratorial.

11.e Manejo del sangrado

El sangrado gastrointestinal, la epistaxis o el sangrado menstrual abundante pueden ser lo suficientemente graves como para justificar una transfusión de sangre. Debe sospecharse una hemorragia interna significativa en pacientes con signos de hipovolemia intravascular sin elevación del hematocrito. En estas circunstancias, se debe realizar una transfusión de sangre (5 ml / kg de concentrado de glóbulos rojos o 10 ml / kg de sangre total en niños; 1 unidad de concentrado de glóbulos rojos o sangre completa en adultos). Se debe controlar la respuesta clínica y el hematocrito pos transfusión. Los factores que contribuyen

al sangrado incluyen la trombocitopenia debida a la disminución de la supervivencia plaquetaria (153) y, en casos graves, el tiempo de protrombina prolongado y la coagulación intravascular diseminada franca debida a insuficiencia hepática. No se ha demostrado que la transfusión de plaquetas sea eficaz para prevenir o controlar la hemorragia, pero puede estar justificada en pacientes con trombocitopenia grave (<10.000 / mm 3) y hemorragia activa. En general, la preponderancia de los datos no respalda la función de la transfusión de plaquetas profiláctica en pacientes con trombocitopenia grave en ausencia de hemorragia activa (154) (155).Se justifica la administración de vitamina K por vía intravenosa en pacientes con disfunción hepática grave o tiempo de protrombina prolongado(150).

12. *Inmunoprofilaxis*

La infección con un tipo de DENV proporciona protección a largo plazo contra la reinfección contra el mismo serotipo, lo que respalda la viabilidad de una vacuna eficaz, sin embargo la protección contra un serotipo diferentes de corta duración y como se mencionó anteriormente existe una asociación entre la exposición previa a una serotipo y presentar una enfermedad de mayor gravedad en las infecciones secundarias con diferentes serotipos. En vista de la asociación entre la exposición previa a los tipos de DENV y la enfermedad grave, idealmente cualquier vacuna candidata debería producir inmunidad protectora contra los cuatro tipos de DENV (inmunidad tetravalente). Una vacuna, CYD-TDV (Dengvaxia), ha sido autorizada en más de 20 países de América Latina y el sudeste asiático (autorizada por primera vez en 2015). En 2021, el Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización (ACIP) del CDC recomendó oficialmente la vacuna para niños de 9 a 16 años que tienen evidencia serológica de infección previa por dengue (65).

Las vacunas en desarrollo clínico avanzado incluyen TAK-003 (Takeda) y una vacuna tetravalente de virus vivo atenuada mediante mutagénesis dirigida con una cepa quimérica DENV-2 / -4 (Instituto Nacional de Salud, con licencia a Bhutantan y Merck) (156) .

Prevención en viajeros

El enfoque principal para la prevención de las infecciones por DENV en los viajeros consiste en evitar la picadura de mosquitos *A. Aegypti* . Éstos se encuentran predominantemente en áreas urbanas (dentro y alrededor de las casas) y son más activos durante el día y al atardecer. Permanecer en edificios bien protegidos o con aire acondicionado durante el día puede reducir el riesgo de exposición. Cuando estén al aire libre durante el día, las personas deben usar ropa que reduzca la cantidad de piel expuesta y deben usar un repelente de mosquitos eficaz, como aquellos que contengan N, N-dietil-metatoluamida (DEET) o bien picaridina en concentraciones adecuadas. La mayoría de los viajeros provenientes de países no endémicos tienen un riesgo extremadamente bajo de dengue grave en ausencia de una exposición previa al DENV; las posibles excepciones incluyen viajeros internacionales frecuentes, expatriados, personal militar desplegado con frecuencia e inmigrantes de áreas endémicas que regresan a sus países de origen.

Las personas con antecedentes de infección por dengue no necesitan evitar viajes posteriores a regiones endémicas de dengue. El dengue grave ocurre en una pequeña cantidad de infecciones secundarias (2 a 4 %), por lo que el riesgo de dengue grave en viajeros es muy bajo.

14. Justificación

1. El dengue es una enfermedad de distribución mundial con alto impacto en la salud pública y que en la actualidad se encuentra en crecimiento en nuestra región, no sólo en el número de casos sino también en su extensión, al ampliar los límites geográficos "clásicos "de una enfermedad tropical y convertirse en una enfermedad endémica en regiones previamente libres de enfermedad o que históricamente sólo habían presentado casos importados de manera esporádica. Esto podría explicarse por los cambios climáticos y demográficos que está sufriendo la región de las Américas, así como al movimiento de población entre regiones que condicionan la presencia de personas virémicas en áreas con abundancia de vector.

2. La circulación de los 4 serotipos de dengue en la región potencia la posibilidad de casos más graves por dos razones: el ingreso de nuevas variantes más virulentas, y el fenómeno descripto en la infección secundaria por otro serotipo de dengue diferente del de la primoinfección que aumenta el riesgo de DG.

3. El cuadro clínico de la enfermedad puede ser indistinguible de otras causas de síndromes febriles agudos. Además el ingreso de otras arbovirosis en la región, como Virus Zika y Chikiungunya y la reaparición de brotes por fiebre amarilla, complejizan el diagnóstico diferencial de la enfermedad.

4. Las clasificaciones diagnósticas propuesta por la OMS (1997/2009) tienen como principal objetivo detectar casos potencialmente graves de la enfermedad, pero su utilidad para poder diferenciar los casos de dengue de OSFA es discutida.

5. Si bien contamos en la actualidad con varios métodos para el diagnóstico etiológico de la enfermedad, éstos no siempre están disponibles para su uso en el primer nivel de atención en países en vías de desarrollo donde paradójicamente se presentan la mayoría de los casos de dengue. Por otro lado, los resultados no suelen estar disponibles en forma inmediata por lo que se deben plantear conductas terapéuticas basándose exclusivamente en la sospecha clínica.

6. Reconocer al paciente enfermo en sus etapas iniciales y brindarle adecuada hidratación, manejo del medio interno y sostén, de acuerdo al estado del paciente, son las principales medidas que evitan la progresión a DG. Es por ello que el diagnóstico temprano de la enfermedad es un pilar fundamental en el tratamiento.

7. El diagnóstico precoz de la enfermedad es uno de los principales objetivos de muchos grupos de estudio. En este sentido la OMS destaca la importancia de un diagnóstico precoz que pueda permitir una terapéutica adecuada. Sin embargo no muchos estudios han logrado tener resultados conclusivos sobre cuáles serían los parámetros a evaluar para poder llegar a este objetivo y el tema todavía se encuentra en discusión.

15. *Objetivo*

15.a Objetivo primario:

Generar un score diagnóstico que permita diferenciar enfermedad por DENV de OSFA en las primeras 72 hs y pueda aplicarse en el primer nivel de atención.

15.b Objetivos secundarios:

1. Identificar predictores clínicos y hematológicos que permitan diferenciar dengue de otros Síndromes Febriles Agudos (OSFA) en etapas tempranas de la enfermedad (<72hs).

2. Describir las características epidemiológicas del grupo dengue. Buscar predictores de mala evolución comparando las características de los pacientes con diagnóstico de dengue sin signos de alarma versus paciente con DENV con signos de alarma.

16. Materiales y métodos

16.a Estudio de la muestra

Este estudio retrospectivo se realizó mediante la extracción de datos de historias clínicas semiestructuradas diseñadas para el manejo de síndromes febriles agudos ambulatorios atendidos en un hospital especializado en enfermedades infecciosas que fueron evaluados entre enero del 2011 y mayo del 2018. Todos los datos de las historias clínicas fueron completados por médicos especialistas en enfermedades infecciosas.

Criterios de inclusión:

- edad mayor a 18 años
- diagnóstico de dengue confirmado o descartado por un método virológico
- historia clínica completada en las primeras 72 horas de enfermedad y con seguimiento al menos 48 horas posterior al último registro febril.

Criterios de exclusión:

- menores de 18 años
- pacientes con diagnóstico de dengue sospechoso o probable que no haya sido confirmado o descartado según criterios del MSAL
- historias clínicas incompletas
- pacientes con primera evaluación posterior a las 72 horas
- pacientes sin seguimiento en las 48 horas posteriores al descenso de la fiebre.

Se subclasificó a los pacientes en dos grupos:

Grupo Dengue (G-DEN): paciente que cumple criterios de inclusión con un resultado positivo por antígeno NS-1 o RT-PCR.

Grupo Otros Síndromes Febriles Agudos (G-OSFA): paciente que cumple con criterios de inclusión con resultado negativos para dengue por serología IgM en al menos una determinación después del 5to día de enfermedad.

16.b Análisis demográfico-epidemiológico

Se analizó para el grupo dengue: sexo, edad, lugar de residencia y comorbilidades. Se los clasificó como autóctonos o importados según el antecedente de viaje en los últimos 10 días previos al inicio de los síntomas. Se consideró a la residencia como probable lugar de adquisición de la enfermedad de los casos autóctonos y el destino de viaje como lugar de adquisición para los casos importados.

Según el lugar de residencia se subclasificó a los pacientes por comunas en caso de tener residencia en Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Los casos pertenecientes al AMBA (zona definida por los 40 municipios que se encuentran lindantes a la capital federal) se los clasifico en tres zonas geográficas:

Zona Norte (Pilar, Tigre, Malvinas Argentinas, San Miguel, J C Paz, San Fernando, San Isidro, Vicente Lopez), **Zona Oeste** (San Martin, Tres de Febrero, La Matanza, Moron, Hurlingham, Ituzaigó, Merlo, Moreno) y **Zona Sur** (Avellaneda, Lanus, Lomas de Zamora, Esteban Echeverria, Ezeiza, Almirante Brown, Florencio Varela, Berazategui, Ensenada).

16.c Análisis clínico y parámetros de laboratorio

Para poder analizar los días de enfermedad se consideró el primer día de fiebre como fecha de inicio de la enfermedad. Se definieron los días de viremia (DDV) según manifestaciones clínicas, desde 24 horas antes del inicio de la fiebre hasta la defervescencia.

Las variables clínicas se analizaron de forma dicotómica SI/NO. Los síntomas analizados fueron: fiebre, cefalea, dolor retroocular, mialgias, artralgias, hiperemia conjuntival, exantema, prurito, nauseas, vómitos, diarrea, odinofagia, tos seca, cuadro de vía área superior, astenia, anorexia, hematuria, epistaxis, melena, hematemesis, gingivorragia, metrorragias, púrpuras, hemoptisis. Los signos clínicos analizados fueron: temperatura media, tensión arterial sistólica, tensión arterial diastólica.

16.d Clasificación de casos dengue

Se utilizó la definición propuesta por la OMS 2009 para definición de caso y gravedad de la enfermedad. Se analizaron los valores de hematocrito, glóbulos blancos y plaquetas según el día de enfermedad en el que se realizó la determinación.

16.e Análisis Virológico

Todos los casos incluidos en este estudio fueron confirmados por al menos uno de los siguientes criterios virológicos:

(I) Resultado positivo por Real-time reverse transcription polymerase reaction (RT-PCR; QuantiTect SYBR Green RT-PCR kit; Qiagen, Hil- den, Germany).

(II) Detección de glicoproteina-1 antígeno no estructural (NS-1 Bio-Rad Laboratories, Marnes-la- Coquette, France).

Todos los casos síndromes febriles agudos con diagnóstico descartado de dengue fueron excluidos por un resultado negativo por anticuerpos específicos DENV-inmunoglobulina M (IgM) realizados después del día 5 de enfermedad. Todos los análisis virológicos se realizaron en el Laboratorio de Zoonosis del Hospital de infecciosas F J Muñiz.

16.f Análisis estadístico

Los resultados se muestran como media y desvío estándar (DS) o mediana y rango para variables numéricas y porcentaje en las categóricas.

Para comparar grupos se utilizaron las pruebas de Chi cuadrado para proporciones y las pruebas t de Student o Mann-Whitney, según correspondiera, para variables numéricas. Se calcularon Odds Ratios (OR) con sus intervalos de confianza (IC) para el 95% mediante regresión logística. Para identificar los mejores predictores de confirmación de dengue, se construyó un modelo multivariable con regresión logística múltiple y el selector automático de variables (*Forward y Backward Stepwise*). Se incorporaron aquellas variables que en análisis univariado tenían un valor de $p \leq 0.25$. Se evaluó el poder de discriminación del modelo con el área bajo la curva ROC y la adecuación del modelo, con la bondad de ajuste (*Goodness of fit*), el cual indica mejor adecuación cuando el valor es más cercano a 1.

Se consideró significativo un valor de p menor a 0,05. El análisis se realizó con el programa Stata 14.1 (StataCorp, Texas, USA).

17. *Resultados*

17.a Descripción de la muestra

Se analizaron 184 historias clínicas de Síndromes Febriles Agudos asistidas en un Hospital especializado de Enfermedades infecto-contagiosas entre enero del 2011 y abril 2018. La edad media de los pacientes fue de 38,01 (DS 14) años y el 54,35% (n=100) eran de sexo masculino. Se clasificó a los pacientes en dos grupos: G-**DEN (n=130)** con diagnóstico confirmado de enfermedad por virus del dengue y **OSFA (n=54)** otros síndromes febriles agudos con diagnóstico de dengue descartado.

17.b Descripción del Grupo Dengue (G-DEN)

La media de edad de los 130 pacientes que componen el G-DEN fue de 38,4 años con predominio de casos en el sexo masculino (53,03%). Según el lugar de adquisición de la enfermedad se clasificaron **80 casos como autóctonos (61,53%),** y 50 (38,5%) casos como importados. De los 130 casos de dengue, 45 (35%) residían en CABA mientras que el 62% pertenecía a algún municipio del Área Metropolitana de Buenos Aires (34% zona Sur, 27% zona Oeste, 1% Zona Norte). La distribución de los casos en las comunas de CABA y los partidos del Conurbano Bonaerense se muestras en los **Figuras 11 y 12** respectivamente.

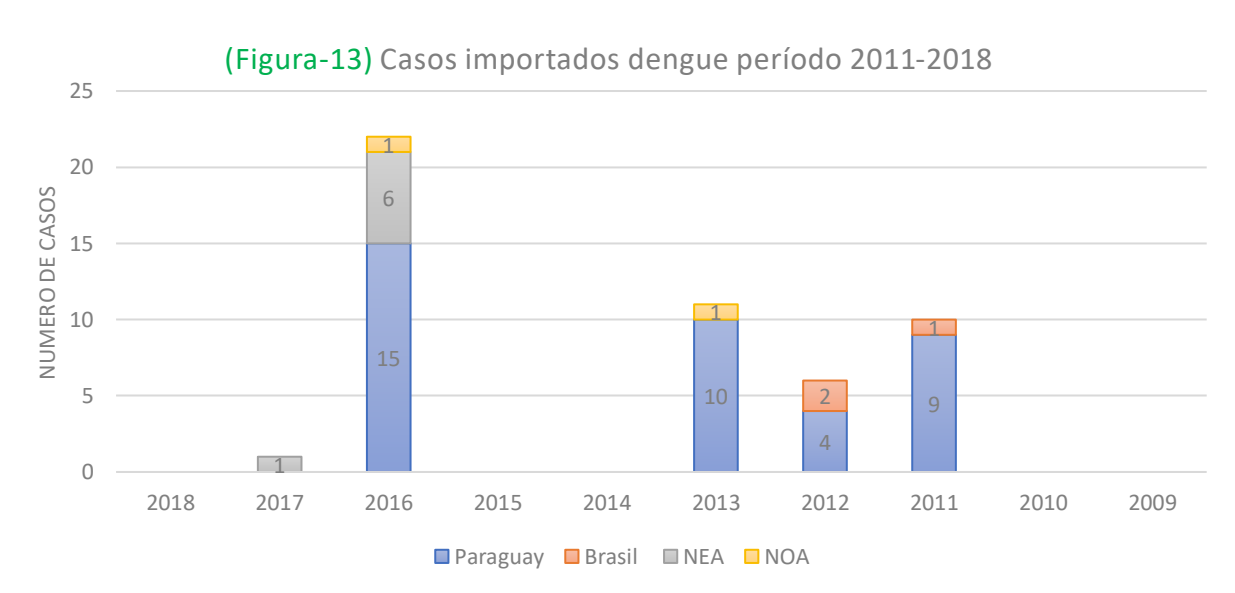
Comunas	n de casos
Comuna 1	3
Comuna 10	3
Comuna 11	1
Comuna 15	2
Comuna 3	1
Comuna 4	20
Comuna 5	2
Comuna 7	3
Comuna 8	5
Comuna 9	1
Sin Dato	4
Total casos	**45**

(Figura-11) Casos de dengue autóctono por Comuna en Ciudad autónoma de Buenos Aires. El HFJM se ubica en la comuna 4 (barrio Parque Patricios) comprendida por los Barrios de Nueva Pompeya, Barracas, Parque Patricios y La Boca. Si bien el hospital es un centro de referencia en enfermedades infectocontagiosas y son evaluados pacientes de todas las comunas , observamos que el 44,4% (15,38% total de G-DEN) residentes en CABA provinieron de la Comuna 4 comprendida en el

área epidemiológica del hospital. Además las comunas de la Zona Sur Comuna 4, 8, 10 fueron las más afectadas en el brote de Dengue del año 2016, del cual se incluyeron la mayoría de los pacientes de este estudio.

(Figura-12) Casos de dengue en el Área Metropolitana de Buenos Aires. El AMBA se define como una zona urbana en común compuesta entre CABA y 40 municipios limítrofes. Como vemos la cercanía geográfica del hospital con los municipios lindantes de zona Sur (34%) y Zona Oeste (27%).

En la **Figura-13** se representan los casos importados de dengue en nuestra serie (n=50); estos corresponden al 38,46%. Se clasificaron según el año y lugar de adquisición de la enfermedad, siendo la República del Paraguay fue el sitio más frecuente de adquisición.



17.c Resultados clínicos

Se recabaron los datos clínicos de signos y síntomas presentes en las primeras 72 horas de enfermedad siendo los más frecuentes: **fiebre (99,2%), cefalea (90,7%) y mialgias (87,6%).** Los síntomas digestivos fueron relativamente frecuentes: el 35% refirió tener dolor abdominal, las náuseas y los vómitos tuvieron una frecuencia del 36 y 33,9% respectivamente.

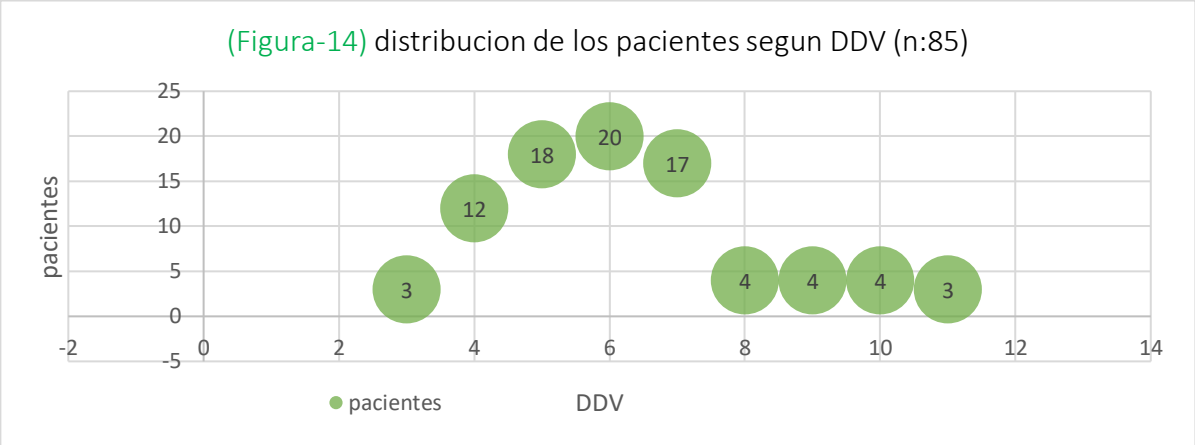
Manifestaciones mucocutáneas como el exantema y la hiperemia conjuntival no fueron frecuentes en nuestra serie. El exantema se presentó con igual porcentaje en ambos grupos (18,4%). Ninguno de los pacientes del grupo dengue presentó cuadro de vía aérea superior (CVAS). Dentro de los signos clínicos que pudieron tener una evaluación objetiva y cuantitativa, ni la temperatura ni la presión arterial tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Todos valores de los signos y síntomas con su porcentaje y análisis estadístico se describen en la **Tabla-3.**

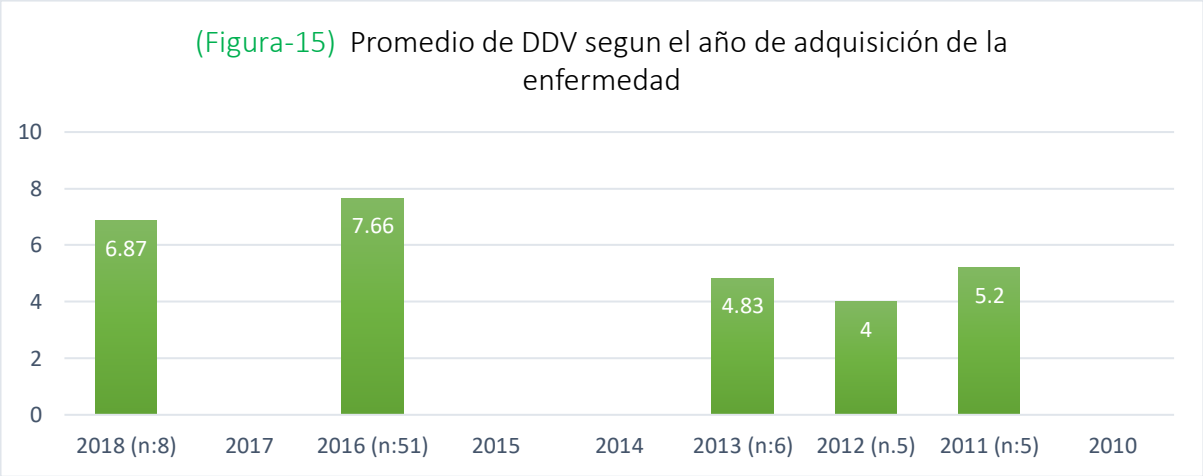
Variable	DENGUE (n=130) *n (%)*	OSFA (n=54) *n (%)*	Z	Valor p	OR crudo	IC 95%
Fiebre (183)	129 (99,2)	53 (98.1)	0.5	0.295	1	1.77- 3.35
Cefalea (183)	118 (90,7)	39 (72.2)	3.24	0.002	3,78	1.63-8.77
DRO	74 (56,9)	23 (42.5)	1,76	0.078	1.78	0.94 - 3.38
Mialgias	114 (87,6)	35 (64.8)	3.46	<0.001	3.86	1.79 8.31
Artralgias	78 (60)	25 (46.3)	1.70	0.090	1.74	.95 3.43
Hiperemia Conjuntival	11 (8.4)	2 (3.7)	1.11	0.265	2.40	.51 11.22
Exantema	24 (18,4)	10 (18,5)	0.01	0.993	.99	0.44 - 2.26
Prurito	13(10)	6 (11.1)	-0.23	0.822	0.88	0.31 2.47
Nausea	48 (36.9)	15 (27.7)	1.19	0.235	1.52	.76 3.04
Vómitos	43 (33)	7 (12.9)	2.69	0.007	3.31	1.38 7.95
DA	35 (26,9)	10 (18.5)	1.20	0.230	1.62	.73 3.56
Diarrea (181)	22 (21,5)	6 (11.1)	1.63	0.103	2.19	.85 5.65
Odinofagia (182)	6 (4.6)	9 (16.6)	-2.56	0.011	.241	.081 .71
Tos seca (182)	11 (8,46)	6 (11,1)	-0.56	0.573	.73	.25 2.11
CVAS	0	5 (9.2)		0.000	1	1.91 3.68
Astenia (181)	5 (3,8)	2 (3.7)	0.05	0.963	1	.19 5.53

Anorexia (181)	5 (3,8)	0% (0)	5.15	0.00	2.31	1.68 3.18
Temperatura Media	105 (37) DS .97	54 (37.1) DS 1.18	0.74	-	-	-
TAS media	110 (115) DS 20.8	19 (122) DS 21.4	0.3396	-	-	-
TAD media	110 (73,7) DS14,6	19 (76.8) DS 13,7	0,53	-	-	-

(Tabla-3) Análisis comparativo de las variables clínicas de los GD vs OSFA. En amarillo se encuentran resaltadas las variables más frecuentes para el GD que alcanzaron significación estadística (p < 0,05). La odinofagia y CVAS (resaltado en verde) también fueron variables clínicamente significativas por no estar asociadas con el GD.

Se analizaron los días de viremia (DDV) en 85 pacientes. El promedio de DDV fue de 6,2 días. Se calcularon las medias de los DDV según el año de adquisicion de la enfermedad observándose una media mayor para el año 2016 (7,66 días) comparándolo con el resto de los años **(Figura 14 y 14).**





Se constataron 14 episodios de fragilidad capilar aumentada en 11 pacientes, 4 de estos episodios fueron clasificados como SA: 2 gingivorragias, 1 metrorragia, 1 hematoquecia. En orden de frecuencia los episodios de fragilidad capilar aumentada fueron: 5 petequias, 3 gingivorragias, 2 metrorragias, 2 epistaxis, 1 hematemesis, 1 hematoquecia. No se registraron hematurias.

De los 130 casos de dengue, 33 (25,38%) presentaron signos de alarma (SA). Además, doce de estos pacientes presentaron más de un SA durante el padecimiento de su enfermedad. Los SA más frecuentes fueron los digestivos (75%): Dolor abdominal (48,4%), vómitos (27,2%) e intolerancia oral (15%). En la (**tabla-4)** se describen todos los pacientes con sus respectivos SA.

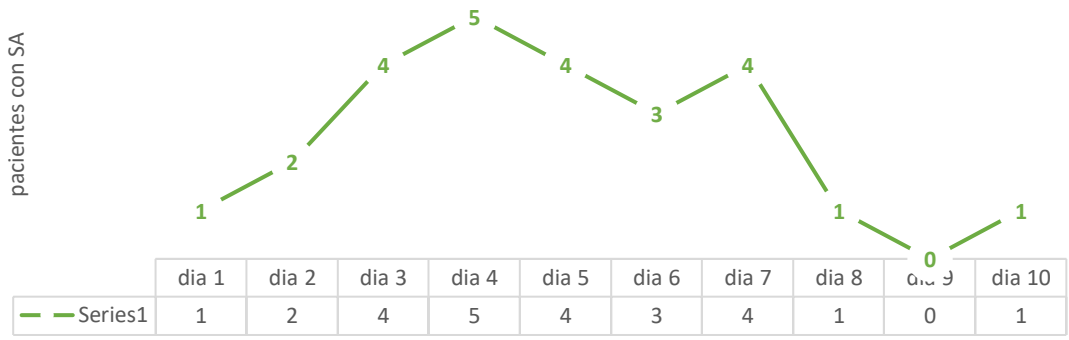
El 80% de los pacientes presentó el SA entre el día 3 y 7 de la enfermedad con una media de 4,8 días **(Figura-16).** Solo 9 pacientes (6,92% del total del GD) requirieron internación. No se constató ningún óbito.

Paciente(*n=33*)	Signo de Alarma	Día de presentación	Internación
3	DA , Sangrado	s/d	No
15	DA	s/d	No
18	DA	s/d	No
31	DA, V, Som	6	No
34	DA, >hto, IO	4	No
36	DA, V	4	No
37	DA, V, Som	5	No
42	Hipotensión, serositis	7	No
46	Sangrados, V	3	No
48	IO,DA	5	No
52	IO	2	Si
53	DA,V	3	No
54	Serositis	4	Si
55	Desconocido	7	No
61	V	2	No
69	DA	6	No
72	Som	s/d	Si
74	DA	3	Si
75	IO	1	No
77	Desconocido	10	No
78	DA	3	No
80	IO	5	Si
83	V	7	Si
84	DA	8	No
90	V	6	No
94	V	7	No
103	DA, Serositis	s/d	Si

106	DA, Som	4	Si
107	DA; Sangrados, > hto	s/d	SI
116	DA	s/d	No
118	Sangrados	s/d	No
123	hepatomegalia	4	No
128	hepatomegalia	5	No

(Tabla-4) Análisis comparativo de las variables clínicas de los GD vs OSFA. En amarillo se encuentras resaltadas las variables mas frecuentes para el GD que alcanzaron significación estadística ($p < 0,05$). La odinofagia (resaltada en verde) también fue una variable clínicamente significativa con peso estadístico al no estar asociada con el GD. DA=Dolor Abdominal, V=vómitos. Som=somnolencia, >hto= aumento del hematocrito, IO= intolerancia oral.

(figura-16): Presentación signo de alarma según día de enfermedad



17.d Resultados de laboratorio G-DEN

Los valores de media y desvio standart de glóbulos blancos, plaquetas y hematocrito se grafican en la **(Figura-17-A 17-B y 17-C).** La plaquetopenia (G-DEN 38,46% vs G-OSFA 18,52% OD 2,75) y la leucopenia (G-DEN 38,46% vs G-OSFA 20,37% OD 2,44) fueron mas frecuentes en el G-DEN con significación estadística. Los valores de plaquetas y glóbulos blancos comenzaron a disminuir el día 3 de enfermedad. La recuperación de los valores es más temprana en los leucocitos llegando a valores normales el día 7 de enfermedad, en cuanto a las plaquetas se observó una recuperación más tardía, cercana al décimo día de enfermedad. Los valores de hematocritos muestran una discreta hemoconcentración entre los días 5 y 7 de enfermedad (43% a 46%) recuperándose rápidamente.

Se estableció el diagnóstico de dengue por NS-1 en 118 pacientes, todos ellos en contexto de brote. Se obtuvo el diagnóstico por métodos moleculares (RT-PCR) en 36 pacientes siendo el serotipo más frecuentemente encontrado el **serotipo 2.** En la **(Figura-18)** representa la distribución de resultados positivos según el día de enfermedad pudiéndose observar que el 80% de los casos obtuvo un resultado positivo con muestras tomadas entre el 2do y 5to día de enfermedad. En 26 pacientes el diagnóstico tuvo confirmación conjuntamente por RT-PCR y NS-1.

Figura-17: Promedio de recuento de glóbulos blancos por día de enfermedad

A

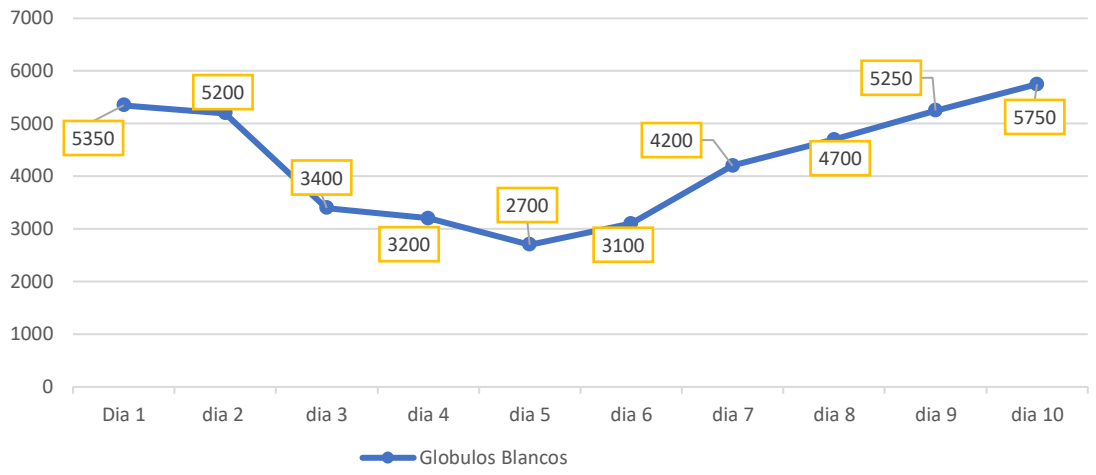


figura-17: Promedio de plaquetas según día de enfermedad

B

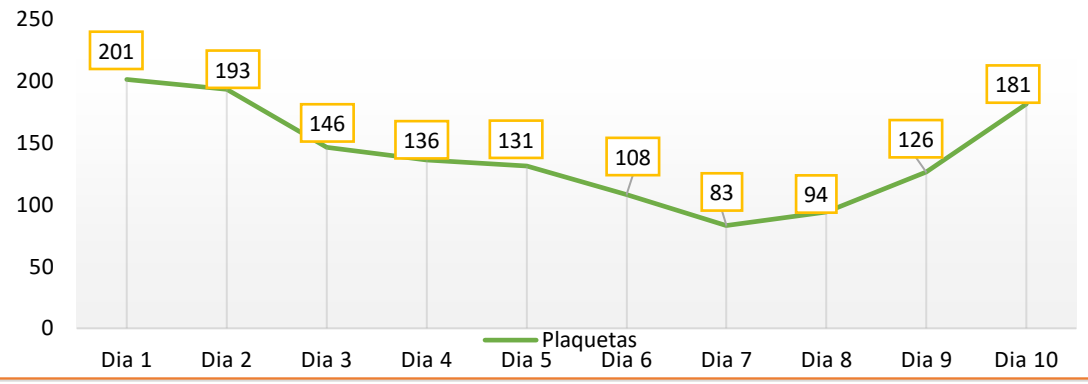
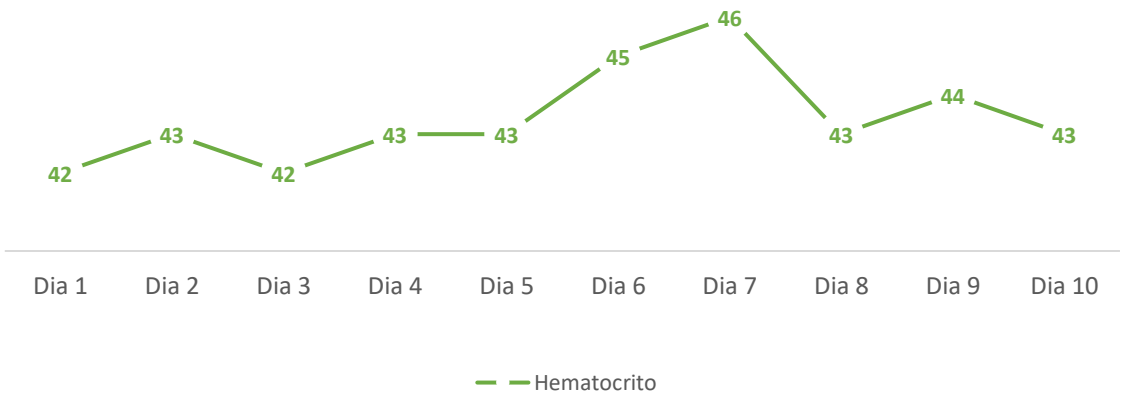
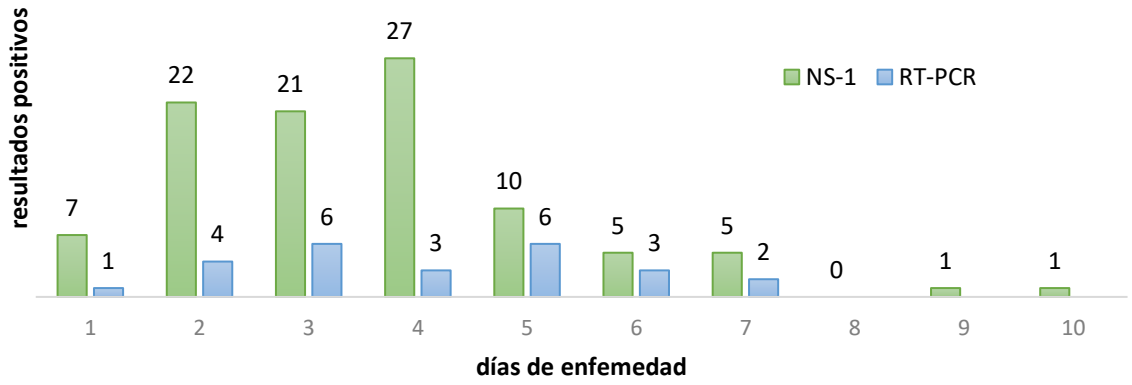


figura-17: Valor promedio de hematocrito según día de enfermedad

C



(Figura 18): Métodos diagnósticos según día enfermedad



17.e Comparación de subgrupos de dengue sin alarma (DSA) y dengue con alarma (DCA)

Se compararon las características clínico-demográficas de los casos de dengue sin alarma (DSA) vs dengue con signos de alarma (DCA)**.** Los promedios de edad fueron similares en ambos grupos con predominio de sexo masculino en ambos grupos. Las comorbilidades asociadas como HIV, DBT y obesidad fueron más frecuentes en el grupo DSA sin alcanzar significación estadística. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los signos y síntomas en ambos grupos. En la **tabla-5** se describen las variables analizadas con valor estadístico.

Variables Clínicas / epidemiológicas	**DSA (n=97)**	**DCA (n=33)**	***P value***
Sexo femenino	44 (47,3)	17 (45,95)	0,88
Sexo Masculino	49 (52,6)	20 (54,05)	
Edad *Mediana (rango)*	39.6 38	35.7 33	0.18
DBT	5 (5,43)	0	0.17
obesidad	1 (1.09)	0	0,71
HIV	1 (1.09)	0	0,71
Fiebre	92 (98,9)	37 (100)	0.71
Cefalea	83 (89.2)	35 (94.5)	0.5
DRO	51 (54,8)	23 (62,1)	0.557
Mialgias	81 (87,1)	33 (89,1)	1
Artralgias	55 (59,1)	23 (62,1)	0.884
Hiperemia	7 (7,53)	4 (10,8)	0.507
Exantema	19 (20,4)	5 (13,5)	0.457
Prurito	11 (11,8)	2 (5,4)	0.341
Diarrea	23 (24,7)	5 (13,5)	0.237
Odinofagia	5 (5.3)	1 (2,75)	0.674

Astenia	4 (4,3)	1 (2,7)	1
Anorexia	5 (5,3)	0	0.321
Hto% Mediana (rango)	42,7 43	42,2 43	0.806
Plaq **(**P50%)	200.360 157.000	170.000 160.000	-0.449
GB **(**P50%)	4233 3900	4424 4300	-0,446

Tabla-5: Análisis de las variables de los pacientes con signos de alarma vs sin signos de alarma.

17.f Comparación casos de dengue vs OSFA

Para identificar predictores de confirmación de dengue, se compararon los 130 casos del G-DEN versus 54 casos G-OSFA. La edad media fue similar en ambos grupos (38,4 G-DEN vs 36,8 G-OSFA), con predominio del sexo masculino (53,08% vs 53.08%) similar en ambos grupos. Los signos y síntomas más prevalentes tanto en el G-DEN como en el OSFA fueron fiebre, cefalea y mialgias. En la **tabla-3** se presentan los resultados del análisis univariado. Los vómitos se observaron con mayor frecuencia entre los pacientes G-DEN. Por el contrario, la odinofagia y el CVAS no se observó en los pacientes del G-DEN. Cuando se compararon los hallazgos de laboratorio podemos observar que la plaquetopenia y la leucopenia también fueron más frecuentes en el G-DEN y ambos parámetros alcanzaron significación estadística en el modelo univariado. La hemoconcentración se presentó entre el día 5-7 del G-DEN únicamente (4,62% vs 0%) pero no alcanzó significación estadística.

Para identificar los mejores predictores de confirmación de dengue, se construyó un modelo multivariable con regresión logística múltiple y el selector automático de variables (*Forward y Backward Stepwise*). Los resultados del modelo multivariable se describen en la **Tabla-6**.

Se incorporaron aquellas variables que en análisis univariado tenían un valor de p≤0.25. Se evaluó el poder de discriminación del modelo con el área bajo la curva ROC y la adecuación del modelo, con la bondad de ajuste (*Goodness of fit*), el cual indica mejor adecuación cuando el valor es más cercano a 1. En el modelo de predictores clínicos y de laboratorio se tomaron las 4 variables obtenidas en la regresión logística. Como observamos en la **tabla-7**, en presencia de odinofagia/CVAS y ausencia del resto de las variables la probabilidad de confirmación de dengue es baja (<10%). Sólo la ausencia de odinofagia/CVAS asociada a una única variable le otorga una probabilidad de diagnosticar dengue del 58 al 68%. La mayor sensibilidad del modelo se obtiene cuando la odinofagia/CVAS está ausente y las otras tres variables se encuentran presentes, otorgándole una probabilidad de confirmar el caso sospechoso cercana a un 95% (91 a 95%). Es interesante señalar que la presencia de sólo dos variables de tres y la ausencia de odinofagia/CVAS el modelo mantiene una sensibilidad cercana al 80%.

Tabla-6. Modelo multivariable con predictores de confirmación de dengue.

Predictor	OR	IC95%	Valor de p	Evaluación del modelo
Odinofagia*	0,20	0,06-0,69	0,010	Bondad de ajuste: p=0.93 Área bajo la curva ROC=0,74
Mialgias	4,15	1,79-9,60	0,001	
Vómitos	4,07	1,59-10,47	0,004	
Plaquetopenia	2,71	1,19-6,20	0,018	

*La presencia de odinofagia se asoció con una reducción del 80% en el riesgo de confirmación de Dengue. En la **tabla 4** se presentan los resultados del modelo multivariable que resultó el mismo al utilizar el selector hacia adelante como hacia atrás.

Tabla-7. Probabilidades de confirmación de dengue según la combinación de predictores presentes.

	Predictores		Probabilidad de confirmación de Dengue	
	Odinofagia	Plaquetopenia, vómitos y mialgias	Calculada por el modelo	Observada en la muestra
1	Presente	Ausentes	9,54%	0%
2	Ausente	Ausentes	33,98%	25%
3	Ausente	Uno de tres presente	58,27 - 68,05%	68,83%
4	Ausente	Dos de tres presentes	85,28 - 89,68%	87,30%
5	Ausente	Los tres presentes	95,94%	91,67%

18. *Discusión*

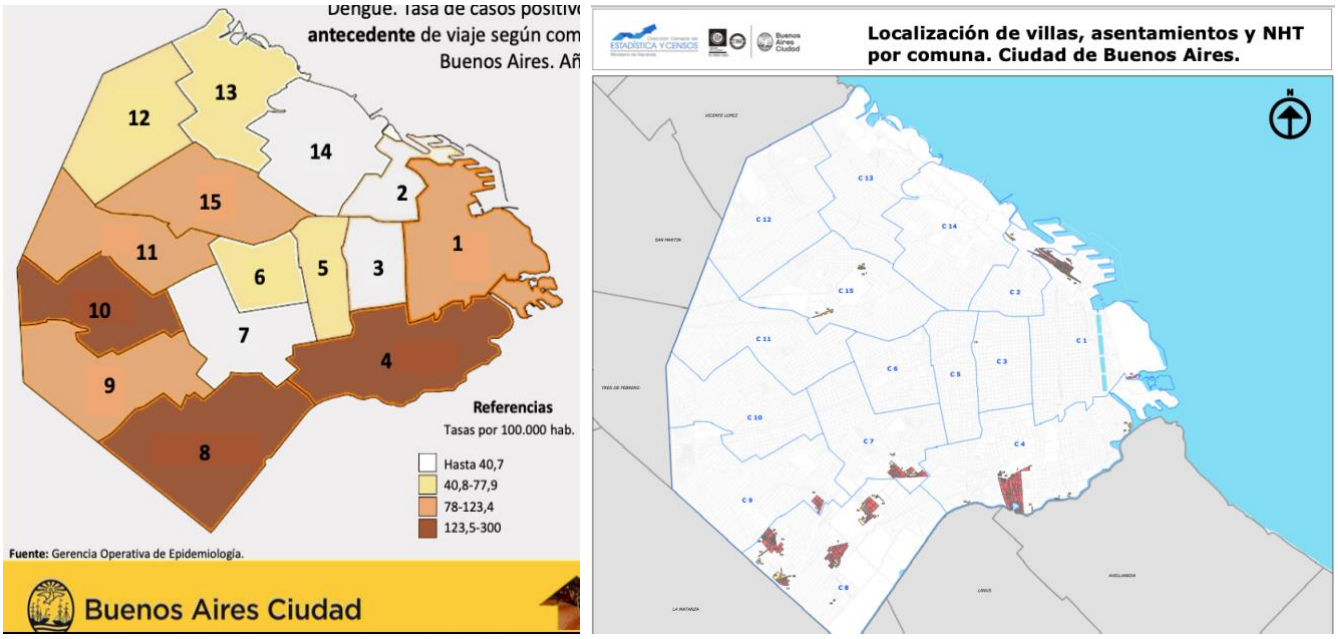
18.a Discusión de resultados epidemiológicos G-DEN

La incidencia de casos de dengue en el AMBA es variable y está relacionada con la incidencia de casos en otras regiones del país (NOA y NEA) así como también la situación epidemiológica de los países limítrofes. En este estudio el 45% de los casos fueron importados siendo Paraguay el lugar de adquisición más frecuente; esto guarda relación con el fenómeno migratorio que se produce para la época de las fiestas y vacaciones de verano (diciembre-marzo), donde ingresan al AMBA personas en período virémico desde regiones del país y países limítrofes que se encuentran con circulación viral activa. Este fenómeno fue descripto en esta región por primera vez por Seijo AC y col en 2009, donde se pudo establecer una relación témporo-espacial entre los casos importados (provenientes del NOA y países limítrofes) y autóctonos de dengue (167). Esto destaca la importancia del antecedente de viaje a zona endémica para el diagnóstico de la enfermedad en regiones interepidémicas como lo es el AMBA, donde la presencia de casos depende en gran parte del flujo migratorio desde regiones con circulación viral sostenida.

En relación a los casos autóctonos analizados vemos que la mayoría de los casos de CABA provenían de comunas cercanas al HFJM (zona sur) y también sabemos, por los datos publicados en el boletín oficial del Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, que las comunas más afectadas se encuentran ubicadas en la región sur de CABA. El mayor impacto de la enfermedad en esta zona es causado principalmente por las asimetrías socioeconómicas que hay entre las Zonas Norte y Centro de la capital en relación a la Zona Sur **(figura-19)**.

Un artículo de la Facultad de Ciencias Económicas de la Universidad de Buenos Aires (168) realizado en el 2016, informa que la Zona Sur de CABA tiene una mayor tasa de desempleo, menor ingreso per cápita, y menor tasa de cobertura médica (ya sea por obra social o prepaga). Por otro lado, la mayor parte de los barrios emergentes se encuentran en la Zona Sur de la capital los cuales se caracterizan por su urbanización precaria, sin sistema de recolección de residuos y secundario a ello acumulación de “cacharros”, lo que genera un ecosistema ideal para favorecer los criaderos del mosquito. Es por ello que se entiende a estas zonas de la capital como puntos calientes o “hotspots” en donde la vigilancia epidemiológica y las medidas para combatir al vector deben ser políticas públicas continuas para evitar la generación de nuevos brotes epidémicos. En el caso de los pacientes provenientes de municipios pertenecientes al AMBA hubo una marcada tendencia de casos provenientes de Zona Sur y Zona Oeste, en esta situación podemos aplicar la misma lógica, regiones con urbanización precaria con sistemas de salud que no pueden responder a las demandas de su población lleva a que los pacientes sean derivados al centro de referencia más cercano.

Cuando analizamos los casos importados de dengue tenemos que considerar que la mayoría de los pacientes que se incluyeron en este estudio corresponden al brote de dengue del 2015-2016. Este brote se inició en la región del NEA a fines del año 2015, particularmente en Formosa y Misiones, constituyéndose ésta como la región con el mayor número de notificaciones de la temporada. Esto se produjo debido al intenso flujo migratorio entre dichas provincias y ciudades de los países limítrofes de Paraguay y Brasil que se encontraban con aumento significativo en el número de casos.



(Figura-19) Comparación tasas de dengue por comuna en CABA en relación o barrios emergentes para año 2016. La figura de la izquierda muestra las tasas de notificación por 100.000 hab para las difrentes comunas, dichas tasas son 5 veces más elevadas en la Zona Sur compuestas por las comunas 2,3,7 y 14. En la figura B podemos ver en rojo los barrios emergentes por comuna en capital Federal, la mayoría ubicados en la Zona Sur.

18.b Discusión Resultados Clínicos G-DEN

Los síntomas más frecuentemente observados fueron fiebre (99,2%), cefalea (90,7%) y mialgias (87,6%), estos síntomas forman parte de la definición de síndrome febril agudo, por lo que no son distintivos de ninguna enfermedad en particular. Si bien la intensidad y duración de los síntomas son variables de acuerdo a su etiología, al ser frecuentes también en el grupo G-OSFA no son parámetros que nos permitan discriminar entre ambos grupos. En el trabajo de ***Jenny H low y Col*** que compara los casos de G-DENV vs. G-OSFA vs. influenza los autores concluyen que síntomas como dolor retroocular, exantema, disgeusea, vómitos y náuseas fueron más frecuentes en el grupo DENV. También los síntomas en el grupo dengue tuvieron una duración más prolongada (media de 10 días vs 5 días OSFA, 6 días Influenza)(165). Si bien es difícil establecer una escala objetivable de la intensidad de los síntomas, este parámetro junto a la duración de los mismos podría constituir una variable que permitiera orientar el diagnóstico en los síndromes febriles agudos.

La duración promedio de los síntomas no se analizó, pero se obtuvo el promedio de DDV siendo el mismo de 6,2 días. Se calcularon las medias de los DDV según el año, observándose una media mayor para el año 2016 (7,66 días). En un estudio de infección humana experimental con una cepa de DENV-1 con baja atenuación tuvo un período de incubación medio de 5,9 días (rango de cinco a nueve días), el tiempo medio de viremia fue de 6,8 días (rango de tres a nueve días) y un pico medio de ARNemia de 1,6 x

10 7 equivalentes de genoma(169). Otro estudio de infección natural por dengue , la viremia se detectó de 6 a 18 horas antes de la aparición de los síntomas y terminó aproximadamente cuando la fiebre desapareció(170). Se podría conjeturar que a mayor DDV, mayor posibilidad de transmisión de la enfermedad y consecuentemente mayor número de casos. El promedio de DDV del año 2016 fue más alto que otros años (7,66 días) ver **figura-18**, coincidente con ser el año que mayor número de casos presentó dentro del período analizado en este trabajo (2009-2018). Es importante señalar que esta es una conclusión relativa con limitaciones en relación a los datos, ya que el número de pacientes analizados para cada año fue pequeño y variable por lo que no son susceptibles de comparación.

En este trabajo los síntomas digestivos analizados tuvieron una frecuencia variable que osciló entre 3 y 37% (dolor abdominal 26,9%, náuseas 36,9% y vómitos 33% , diarrea 26%, anorexia 3,8%). En nuestro escenario epidemiológico la mayor incidencia de casos de dengue se presenta entre los meses de diciembre y abril, período coincidente con la presentación de casos de gastroenteritis infecciosa durante el verano. Esta frecuencia de síntomas digestivos también se describió en un trabajo realizado en pacientes pediátricos (n=156) en un hospital especializado de CABA durante el mismo año, donde aproximadamente la mitad de los pacientes presentaron síntomas abdominales (náuseas, vómitos y dolor abdominal)(171). Algunos cuadros de dengue podrían confundirse con gastroenteritis infecciosas y viceversa, por lo cual es importante categorizar los síntomas digestivos , contextualizar al paciente con su epidemiología local y evaluar la respuesta terapéutica principalmente en casos con diagnóstico presuntivo dudoso. Como analizaremos en profundidad más adelante, de los estudios a los que tuvimos acceso los síntomas digestivos que más frecuentemente se utilizaron para la construcción de un modelo predictivo de dengue fueron las náuseas y los vómitos ver **tabla-6** (172)(161).

En muchos trabajos el exantema se utiliza como un rasgo distintivo que podría ser utilizado para la clasificación de los casos de dengue (163)(173)(165)(117)(161), pero solo en dos trabajos (106(108) el score fue construido con variables presentes en las primeras 72 hs de enfermedad. En este estudio signos como el exantema y la inyección conjuntival, tuvieron una frecuencia relativamente baja (18,4 y 8% respectivamente) y no fueron útiles para la construcción de un modelo predictivo. Si bien suelen ser signos característicos de las arbovirosis, su frecuencia en etapas tempranas posiblemente sea baja debido a que fisiopatológicamente podrían considerarse fenómenos inmunomediados que se presentan con la aparición de la inmunidad adaptativa.

Las manifestaciones hemorrágicas no fueron frecuentes en las primeras 72hs de enfermedad en nuestro estudio, sólo tuvimos un episodio de sangrado en día 3 en un paciente que conjuntamente presentó vómitos incoercibles como SA asociado (ver **tabla-4**). Ya hemos citado trabajos que utilizaron los sangrados como variable clínica (174)(173)(161)(158) (159), pero ninguno de ellos considera el tiempo de evolución de los síntomas para la generación del score, en el estudio de ***Fernández y Col*** (102) incluyeron pacientes con síntomas de menos de 5 días de evolución, lo cual incluye pacientes en etapa crítica de la enfermedad donde es esperable que se presenten manifestaciones hemorrágicas.

Ninguno de los pacientes con dengue presento CVAS (rinorrea, congestión nasal) este resultado es concordante con la mayoría de las series publicadas de DENV (152) y destaca su valor para elaborar la definición de caso sospechoso. **Constatar la ausencia de cuadro respiratorio alto** en pacientes con síndrome febril agudo es de vital importancia para poder

orientar el diagnóstico. Muchas causas de síndrome febril agudo de importancia epidemiológica como leptospirosis, malaria, rickettsiosis, fiebre amarilla y otras arbovirosis, no presentan CVAS. Es por ello que la presencia de CVAS en un paciente febril tiene un VPN alto para descartar enfermedad por DENV, pero no es útil para confirmarla.

Desde diciembre del 2019 con la introducción del COVID-19 como causa de SFA ha complejizado la forma de abordar este síndrome. Los síntomas del COVID-19 suelen ser inespecíficos y se caracterizan principalmente por fiebre, odinofagia, cefalea, dolor retroocular y como síntomas más patognomónicos la anosmia y disgueusia.

En las últimas definiciones de caso además se agregó el CVAS como otro síntoma que puede estar presente en los pacientes con Covid-19. También se han descripto síntomas digestivos (diarrea, náuseas, vómitos) y afecciones dermatológicas. Además el hasta un 35% de los pacientes cursa la infección de manera asintomática(175)(176). Ninguno de los síntomas anteriormente mencionados tiene una frecuencia que permita construir una definición clara de caso sospechoso, que tenga una buena sensibilidad y especificidad, debido a que ninguno de ellos tiene una frecuencia que supere el 50% en las series de casos (177) (149). Es por ello que actualmente el diagnóstico recae principalmente sobre los métodos moleculares o antigénicos. Además, en una proporción de pacientes cercana al 20% la RT-PCR puede ser negativa aún presentando la enfermedad, siendo necesario repetir el hisopado (RT-PCR) o utilizar otro método para poder arribar al diagnóstico (178).

Muchos síntomas del dengue y del Covid-19 se solapan entre sí: la cefalea, fiebre, dolor retroocular y mialgias se presentan en ambas enfermedades. La disgueusia también fue descripta en pacientes con dengue previamente(165), y suele presentarse asociada a anorexia y otros trastornos digestivos. Se han observado manifestaciones cutáneas en el Covid-19 similares al DENV como el exantema y las petequias. También se describen para el Covid-19 lesiones de tipo vesicular, pero este tipo es infrecuente en DENV. Como dijimos anteriormente la principal diferencia en estas dos enfermedades radica en la presencia de síntomas respiratorios observados en los pacientes con Covid-19, sin embargo ésta puede no estar presente en los primeros días de enfermedad, ya que el compromiso respiratorio más florido que compromete la vía respiratoria baja se presenta típicamente a fines de la primera semana. Tampoco el laboratorio presenta características distintivas: la linfopenia y el aumento de las transaminasas descriptas en los pacientes con covid-19 también están presentes en el DENV(179)(180).

En muchos de los países que estuvieron y están actualmente en situación de sindemia(181)(182) la sobrecarga al sistema de salud en la atención de estas dos patologías puede producir frecuentemente un diagnóstico erróneo y con ello consecuencias muy graves: en el caso del dengue un diagnóstico erróneo o tardío aumenta la posibilidad de progresión al dengue grave, por otro lado, un paciente con Covid-19 debe ser rápidamente clasificado para tomar las medidas de aislamiento adecuadas y realizar el correcto seguimiento al paciente y a sus contactos estrechos.

Debido a que el presente estudio se realizo previo diciembre 2019, no pudimos evaluar diferentes síntomas del dengue que podrían solaparse con el Covid-19, por lo que no sabemos cuál es al sensibilidad del score en este nuevo contexto epidemiológico.

18.c Discusión Resultados Laboratorio G-DEN

El análisis de laboratorio es esencial para orientar el diagnóstico en los pacientes con síndrome febril agudo. En el caso del SFA por dengue en la gran mayoría de los pacientes se puede observar leucopenia (generalmente asociado a linfopenia) y plaquetopenia, ambas suelen iniciar en la etapa febril acentuándose en la **Fase crítica**, y recuperándose con los días durante el período de convalecencia de la enfermedad. Usualmente las plaquetas recuperan sus valores de manera mas tardía en comparación a los leucocitos. En las primeras 48 hs de enfermedad algunos pacientes pueden presentar una discreta leucocitosis que podría que puede asociarse con una infección bacteriana, sin embargo esto es un hallazgos totalmente inusual y temporario en los pacientes con DENV, por lo que no lo hace relevante a la hora del diagnóstico.

En el análisis univariado de nuestro estudio, tanto la leucopenia como la plaquetopenia fueron más frecuentes en el G-DEN, como se observa en la **Figura-17a** , la media de glóbulos blancos para el día 3 es de 3400 (VN: 4.000 -11.000) recuperando los valores normales para el día 7 una vez superada la etapa crítica de la enfermedad. Si observamos el **Figura-17b** donde se grafican el valor promedio diario de las plaquetas podemos observar que los valores caen por debajo del limite normal (VN: 150.000 - 409.000) en el día 3, pero a diferencia de los leucocitos la recuperación es mucho más tardía, aun después de haber superado la etapa crítica una gran proporción de pacientes no llega a normalizar estos valores sino hasta el día 9 o más (etapa de convalecencia).

En el análisis comparativo realizado entre los pacientes del G-DEN con y sin signos de alarma no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de glóbulos blancos y plaquetas. Si bien no se pudo establecer una relación entre valores más bajos de plaquetas y leucocitos con la progresión de la enfermedad, no podríamos descartarlo debido a que los grupos se componen de un número reducido de pacientes (G-DSA n= 97 ; G-DCA n=33).

El **fenómeno de hemoconcentración** se da en los pacientes con dengue que presentan un aumento de la permeabilidad vascular y secundario a esto una pérdida de plasma del intravascular, usualmente este fenómeno ocurre en las 48hs posteriores al cese de la fiebre.

En la **figura-20** observamos que para un valor promedio diario de 43%, entre los días 6 y 7 los valores tienden a elevarse por encima de la media en todos los pacientes del G-DEN (tanto G-DCA G-DSA), pero sólo en dos pacientes la hemoconcentración fue considerada un signos de alarma. En la mayoría de los casos el aumento de 3 puntos en el hematocrito no tuvo tal magnitud como para ser considerado un signo de alarma. Esta característica del G-DEN no se presentó en las primeras 72hs de enfermedad por lo que no fue útil para la construcción del score diagnóstico.

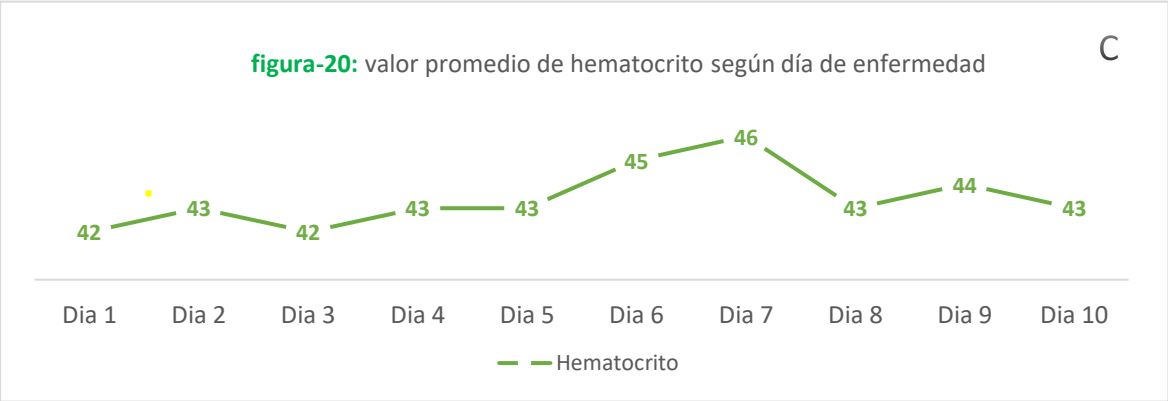


figura-20: valor promedio de hematocrito según día de enfermedad

La mayoría de los pacientes con dengue presentan aumento de transaminasas a predominio de GTP sobre GOT que no se acompaña de aumento de la bilirrubina y es producto de un daño a los hepatocitos por acción directa del virus, aunque también en pacientes con DG puede deberse a la injuria hepática producto del shock hipovolémico y la cascada de citoquinas. Pocos son los trabajos que utilizan el hepatograma como variable de interés diagnóstica **tabla-4**. En este trabajo se decidió no utilizar los valores de hepatograma porque no son, en principio, característicos de enfermedad por dengue. Dado que el aumento de las transaminasas se da en muchas infecciones virales, como también se puede presentar por el consumo de analgésicos (paracetamol) en los pacientes febriles, se decidió no incluirlo como variable de estudio. Además poder construir un score sólo utilizando el hemograma del laboratorio, es una opción más sencilla para adaptarla al primer nivel de atención, donde los recursos son más limitados.

Tanto el ionograma como la función renal no son valores que presentan alteraciones en los pacientes con DENV y su utilidad en etapas tempranas de la enfermedad no ha sido constatada.

18.d Discusión de los parámetros de laboratorio como predictores de dengue

En relación a los parámetros de laboratorio, en el análisis univariado, tanto la leucopenia como la plaquetopenia fueron más frecuentes en el GD, sin embargo en el análisis multivariado la leucopenia no alcanzó significación estadística. Esto podría deberse a que el G-OSFA se compuso, en su mayoría, por pacientes con infecciones virales (Chickungunya, Parvovirus, gastroenteritis viral estacional, etc.) donde la leucopenia es una característica frecuente. Sin embargo muchos de los trabajos que hemos incluido en la discusión utilizan este parámetro para identificar DENV por lo que parece ser una variable útil para construir un score y como lo constatamos en nuestra serie, está presente en las etapas tempranas. La plaquetopenia también ha sido utilizada en varios trabajos, pero a diferencia de la leucopenia parecería ser un parámetro más específico de la enfermedad por dengue.

18.e Discusión Resultados de los subgrupos DSA vs DCA

De los 130 casos confirmados de dengue, 33 (**25,38%)** fueron clasificados como DCA. Las características de epidemiológicas de ambas poblaciones eran similares: el predominio de sexo masculino y edad similares, por otro lado las comorbilidades asociadas no fueron una variable determinante en la presentación de signos de alarma en el GD.

En un estudio retrospectivo realizado en Brasil con más de 30.000 casos de dengue (183), que utilizó la clasificación OMS-2009, se halló que el **27,4%** (8404 / 30.670 casos) fueron clasificados como dengue con signos de alarma, si bien los autores refieren que este número puede ser sobreestimado, los resultados fueron similares en este trabajo. Es difícil descartar la posibilidad de que algunos pacientes fueran mal clasificados debido que al componerse de variables clínicas la subjetividad del médico tratante en la interpretación del paciente puede sub o sobre estimar la gravedad de la enfermedad. En este estudio la clasificación clínica de todos los pacientes fue realizada por médicos especialistas en

enfermedades infecciosas, lo que es una singularidad que podría favorecer la exactitud de los datos.

En este estudio, los SA más frecuentes fueron los digestivos: dolor abdominal, vómitos e intolerancia oral. Además, 12 de estos pacientes presentaron más de un signo durante el padecimiento de su enfermedad. Se ha descripto que la sensibilidad de un solo signo de alarma para pronosticar la progresión a dengue grave no es superior al 64%, siendo superior cuando se presentan más de un signo de alarma (184) . En nuestra serie 12 pacientes de los 33 presentaron al menos dos SA y cuatro de estos doce presentaron tres SA **(tabla-4)**.

De los pacientes que se presentaron con uno solo SA , siete tuvieron dolor abdominal y siete presentaron vómitos incoercibles o intolerancia oral, es difícil de evaluar de manera retrospectiva cual hubiese sido la progresión de estos pacientes hacia un dengue grave, considerando que todos ellos recibieron tratamiento adecuado con hidratación endovenosa y sostén clínico.

Del total de pacientes en el grupo dengue sólo 9 (6,92%) requirió internación por diferentes causas las cuales no pudieron ser evaluadas en este estudio. El 80% de los pacientes presentó el SA entre el día 3 y 7 de la enfermedad (media de 4,8 días) esto coincide con la fisiopatología de la enfermedad y también se observó en otras revisiones de casos. En un estudio multicéntrico realizado en el sudeste asiático y América Latina, entre el 2006-2007, que reclutó a 2259 pacientes con sospecha de dengue y confirmó 1773, concluyó que la mayoría de los paciente presentó el signo de alarma entre los días 4 y 7 de enfermedad y destaca la importancia del dolor abdominal como SA, el cual manifestó un riesgo tres veces mayor de progresión a DG. También se asoció en el modelo multivariado el letargo, el sangrados de mucosas y el recuento de plaquetas como variables de progresión hacia formas graves de enfermedad.

En un trabajo realizado por un comité experto conformado por ***Eric Martínez y Col*** (185) que tiene como objetivo primario evaluar la utilidad clínica de las clasificaciones propuestas por la OMS para lo que se utilizaron diferentes estudios realizados en la región de las Américas, se puede observar que los SA más frecuentes fueron el dolor abdominal, letargo y sangrado de mucosas.

Es por consiguiente que destacamos la importancia que tuvo para este trabajo y otros los síntomas digestivos, principalmente el dolor abdominal persistente y los vómitos, como signos de alarma del dengue.

Discusión de los diferentes scores diagnósticos propuestos para diferenciar dengue de OSFA

El dengue es una de las enfermedades tropicales menos notificadas (1). La falta de recursos de laboratorio y la presentación clínica inespecífica de casos no graves contribuyen en gran medida a esta situación (157). Los algoritmos de diagnóstico basados en datos clínicos y de laboratorio pueden mejorar la detección y vigilancia de enfermedades en áreas endémicas.

Estudios retrospectivos

En el estudio de ***Daumas y Col 2016***, realizado en Brasil, se construyeron variables clínicas y hematológicas para la construcción de un modelo predictivo de dengue en base a una regresión logística comparándolo con la definición de la OMS-2009 mediante curva de ROC. Las variables que se vieron asociadas para poder diferenciar dengue (D) y no dengue (ND) fueron exantema, inyección conjuntival y leucopenia. Llama la atención en este trabajo la alta prevalencia de exantema detectada en el examen físico de pacientes con dengue (72%) lo cual no se observa en otras series y puede deberse, según refieren los autores, a un diagnóstico erróneo con otras manifestación cutáneas. Entre los datos hematológicos el recuento de leucocitos fue la característica que permitió mejor discriminación. Aunque es común en otras enfermedades virales, la leucopenia se ha informado sistemáticamente como un predictor independiente del diagnóstico de dengue entre pacientes febriles, particularmente en adultos (158). En la regresión logística con datos clínicos y de laboratorio, sólo la inyección conjuntival y el recuento de leucocitos mostraron una asociación independiente con el diagnóstico y fueron seleccionados para permanecer en el modelo final. Este modelo mostró un AUC ROC de 0,82 con 80,8% de sensibilidad y 71,1% de especificidad, superior al modelo de la OMS (OMS(AUC de 0,71). Las desventajas de este estudio son el pequeño tamaño de la muestra y la definición de los casos de dengue ya que se estableció a través de una prueba de dengue positiva, sin aclarar si demostraron seroconversión en muestras pareadas lo que podría haber incluido otras arbovirosis en el grupo dengue por tener una reacción serológica cruzada.

El estudio retrospectivo de ***E. Fernández y Col* 2016** (159) realizado en Honduras incluyó a 548 pacientes que se presentaron con síndrome febril en hospitales públicos. De ellos 390 fueron confirmados con infección por dengue, mientras que 158 tuvieron resultados negativos. El análisis univariable reveló siete variables asociadas con diagnóstico positivo: sexo masculino, petequias, erupción cutánea, mialgia, dolor retroocular, prueba de torniquete positiva y sangrado gingival. En el análisis de regresión logística multivariable, las petequias, el dolor retroocular y el sangrado gingival se asociaron con un mayor riesgo de padecer dengue, mientras que la epistaxis y la palidez cutánea se asociaron con riesgo reducido de dengue. El modelo presentó una sensibilidad del 86,2%, una especificidad del 27,2% y una precisión general del 69,2% permitiendo descartar el diagnóstico de dengue e investigar otras condiciones febriles. Es importante aclarar que el diagnóstico de dengue se realizó con un resultado de IgM positiva en el 87% de los pacientes, sin aclarar si el diagnóstico fue confirmado por seroconversión en muestras pareadas, lo que es un limitante debido a que, en el momento de realización del estudio, Honduras presentaba circulación de otras Arbovirosis (Zika, Chikungunya). El carácter retrospectivo de estudio también fue un limitante debido a que la mayoría de los pacientes fueron incluidos días después del inicio de síntomas.

Tzong-Shiann Ho y Col 2007 (117) realizaron un estudio retrospectivo para diferenciar pacientes con dengue de OSFA durante un brote de DEN-1. Incluyeron 100 pacientes pediátricos y 481 adultos observando como síntomas más frecuentes al ingreso mialgias (46,8%), petequias (36,9%) y náuseas y/o vómitos (33,5%). El valor predictivo positivo (VPP) para la combinación de leucopenia, trombocitopenia, aminotransferasas elevadas (AST/ALT> 1,5) y PCR baja (<20 mg / L) fue del 89,5%, mientras que el valor predictivo negativo fue del 37,4%. Además, el VPP de la combinación se incrementó al 93,1%

mediante la adición de la variable KPTT prolongado. En otro estudio utilizó la plaquetopenia como único parámetro de laboratorio para poder diferenciar dengue de OSFA obteniendo una sensibilidad y especificidad del 87% y 65% respectivamente, siendo el principal limitante de este estudio el pequeño número de pacientes estudiados (160).

Un estudio de casos y controles en un hospital en el estado de Colima, México(161), se realizó utilizando información del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) para dengue. Se analizaron los datos de 2732 casos y 2775 controles emparejados. Se utilizó la regresión logística para obtener Odds Ratio (OR) y el Intervalo de Confianza (IC) del 95%. La presencia de erupción cutánea (OR = 1,7; IC 95% 1,5-2,1), vómitos persistentes (OR = 1,8; IC 95% 1,5-2,3) y aumento de la fragilidad capilar (petequias, equimosis, hematomas o prueba de torniquete positiva; OR = 1,8; IC 95% 1,2-2,6) se asociaron con diagnóstico de laboratorio positivo para dengue. Si bien el estudio cuenta con un número elevado de pacientes, el carácter retrospectivo del estudio no permite comparar con características clínicas tempranas de infección por dengue.

Finalmente en otro estudio retrospectivo realizado con datos obtenidos del sistema nacional de vigilancia de pacientes con dengue, tanto adultos como pediátricos, observó que la erupción en ausencia de tos tuvo un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 82,4% como prueba de detección de dengue en pacientes pediátricos. Entre los adultos, el dolor ocular, la diarrea y la ausencia de síntomas respiratorios superiores se asociaron de forma independiente con la infección por dengue positiva en el laboratorio. Sin embargo no se encontraron predictores tempranos útiles de la infección por dengue en adultos, sugiriendo que confirmación de laboratorio sigue siendo necesaria para el diagnóstico preciso de esta patología (162).

Estudios cohorte

En el estudio de ***Chadwick 2005*** (163), realizado en Singapur de manera prospectiva se analizaron parámetros clínicos y de laboratorio presentados en las primeras 48hs por los pacientes con diagnóstico serológico de dengue mediante regresión logística. De los 381 pacientes estudiados, 148 tenían dengue confirmado serológicamente. La mayoría de ellos tenían dengue sin complicaciones y sólo el 9% dengue hemorrágico. Un modelo basado únicamente en las características clínicas (incluida una variedad de signos cutáneos, frecuencia del pulso y la presencia de inyección faríngea) pudo diferenciar el dengue OSFA con una sensibilidad del 74% y una especificidad del 79%. Un modelo basado en el exantema y la leucopenia alcanzó una sensibilidad del 84% y una especificidad del 85%.

Lukas Tanner y Col (2008)(164) proponen para la identificación temprana de pacientes dengue vs OSFA un algoritmo hecho en base a parámetros clínicos laboratoriales para ello reclutaron un total de 1.200 pacientes que se presentaron en las primeras 72 horas de enfermedad febril aguda y se les dio seguimiento prospectivo durante un período de hasta 4 semanas; 1.012 de ellos fueron reclutados en Singapur y 188 en Vietnam. Del total de 1200 paciente el 30% fue diagnosticado con dengue, clasificándose el resto (836 pacientes) como ND/OSFA. Los autores proponen un árbol de decisión donde se utilizó la temperatura (>37,4 C), el recuento de plaquetas (<193.000) y los glóbulos blancos (<6000) para poder clasificar un caso de dengue con una precisión de un 84,7% .

Cabe destacar que la proporción de pacientes con dengue vs dengue hemorrágico o shock por dengue fue casi la misma en este estudio (173 vs 171) por lo cual algunos de los

parámetros del laboratorio podrían estar asociados a la gravedad de la enfermedad y no ser tan útiles para el diagnóstico en etapas tempranas. Además la nueva clasificación de la OMS fue posterior a la realización del mismo.

***J G H Low y Col* (2011)**(165) realizaron un ensayo prospectivo en 2.129 adultos con SFA de menos de 72hs evolución, de los cuales 250 (11,7%) tenían dengue y el resto fueron clasificados como OSFA e influenza. Los pacientes fueron seguidos durante un período de 3-4 semanas para determinar el resultado clínico. Artralgias, pérdida de apetito, náuseas, vómitos, alteración del gusto, erupciones y sensibilidad cutánea se notificaron con mayor frecuencia en pacientes con dengue en comparación con OSFA o influenza. Los recuentos medios de plaquetas, leucocitos, linfocitos y neutrófilos fueron significativamente más bajos en dengue en comparación con grupo OSFA/influenza. Los pacientes con dengue experimentaron una duración más prolongada de la enfermedad en comparación con el OSFA y la influenza y una mayor proporción de ellos (46,4%) fueron hospitalizados.

Revisiones sistemáticas

Una revisión sistemática de ***JA. Potts 1997-2008***(166) que buscó características clínico-laboratoriales para diferenciar dengue de OSFA de los 15 estudios incluidos, 10 eran estudios de cohortes prospectivos y cinco eran estudios de casos y controles. Siete estudios evaluaron todas las edades, cuatro evaluaron solo a niños y cuatro evaluaron solo a adultos. Los pacientes con dengue tenían recuentos de plaquetas, glóbulos blancos y neutrófilos significativamente más bajos, y una mayor frecuencia de petequias que los pacientes con OSFA. Se notificaron frecuencias más altas de mialgia, erupción cutánea, signos hemorrágicos, letargo, postración, artralgia y dolor articular. Encontraron también hematocritos más altos en pacientes adultos con dengue, pero no en niños. Como limitaciones de esta revisión podemos observar que la heterogeneidad de los estudios hace muy difícil poder establecer comparaciones confiables entre los mismos, así como tampoco se establecieron escalas de calificación de evaluación de la calidad para evaluar los estudios observacionales.

En un trabajo realizado en ***Colombia por Caicedo y col***(158) se propuso generar distintos algoritmos para el diagnóstico de dengue vs OSFA, para ello se analizaron 987 registros de la base de datos de la cohorte de la Red Aedes, de los cuales, 662 eran casos de dengue y 325 no lo eran; 534 tenían datos del hemograma y, de ellos, 392 eran casos de dengue y 142 no lo eran. La mediana del tiempo de evolución de la fiebre en el momento de la captación fue de cuatro días en ambos grupos. Se encontró una proporción significativamente mayor de erupciones cutáneas, manifestaciones hemorrágicas, signos de alarma y alteraciones neurológicas entre los pacientes con dengue. Se generaron cuatro algoritmos, dos de signos y síntomas y dos que incluyeron el conteo de leucocitos (≤4.500/mm3) o de plaquetas (≤60.000/mm3). El algoritmo de mayor exactitud incluyó los parámetros del hemograma, con una sensibilidad de 76,5 % (IC95% 71,9-80,5) y una especificidad de 46,0 % (IC95% 37,6-54,7).La validación externa se hizo en una base de datos con 461 observaciones, de las cuales 79 eran de dengue y 382 no lo eran; en 409 de ellas, 72 con dengue y 337 sin dengue, se registraron los resultados del hemograma. La mediana de días de fiebre fue de tres días para ambos grupos, pero en este caso la sensibilidad fue de

11,1 % (IC95% 4,9-20,7) y la especificidad fue de 91,9 %, siendo inferior a las otras clasificaciones más usadas en Colombia con las que se comparó.

En la **tabla-8** se esquematizan los estudios más importantes citados, como conclusiones generales podemos señalar que ninguno de los trabajos referidos presenta una sensibilidad superior al 90%.

Debido a la heterogeneidad de los estudios la comparación entre ellos es difícil, ya que difieren en la metodología utilizada para la generación de los predictores clínicos, Además los criterios de inclusión para la definición de caso de dengue también varia según los diferentes trabajos y según el año en el que se llevo a cabo el estudio.

Muchos estudios establecen como variables discriminatorias para dengue el exantema y las manifestaciones hemorrágicas, también observamos que muchos estudios usan como variable clasificatoria los síntomas digestivos.

Casi todos los trabajos coinciden en que los parámetros de laboratorio como el hemograma y el recuento de plaquetas son esenciales para la composición de un score diagnóstico de dengue.

Muchos estudios establecen el diagnóstico de dengue a partir de un resultado serológico positivo, por lo cual la clasificación de la enfermedad pudo no haber sido la correcta debido a la posibilidad de reacción cruzada con otras arbovirosis endémicas en la región donde se realizo el estudio.

Algunos scores fueron realizados con datos recabados de una base nacional de vigilancia epidemiológica por lo que al no estar en contacto directo con el paciente algunos signos y síntomas pudieron no ser informados o evaluados correctamente por el médico.

La cantidad de variables utilizadas en este modelo también nos parece pertinente, no todos los modelos utilizan menos de cinco variables. A nuestro entender los score con un gran número de variables son más difíciles de aplicar de forma práctica. Este modelo de cuatro variables que son fáciles de recordar, y podría ser aplicado por diverso personal de salud lo que aceleraría el proceso de clasificación de los pacientes en escenario de alto estrés del sistema de salud como son los brotes y sindemias.

Estudio	*Autor*	Año	*Lugar*	n	Criterios inclusión	Metodología	Variables (n)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Distinguishing dengue fever from other infections on the basis of simple clinical and laboratory features	*David Chadwick*	2005	***Singapur,*** *Tan Tock Seng Hospital*	D= 148 ND= 233	> 18 síntomas < 48hs dengue confirmado por IgM , clasificación previa 2009	regresión logistica	(2) exantema, leucopenia	**84**	**85**
Predictive Value of Thrombocytopaenia in the Diagnosis of Dengue Infection in Outpatient Settings	*S F Tong MMed*	*2007*	***Malasia***	D=24 ND= 63	>12 años, con fiebre < 2 semanas sin foco aparente	cohorte prospectivo	(1) plaquetopenia	**88**	**65**
Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations	*James A. Potts*	2008	***USA,*** *University of Massachusetts Medical School, USA*	10 estudios prospectivos 5 casos controles	estudios en ingles de 1990 a 2007 de poblaciones endémicas no viajeros.	revisión sistemática	(4) paquetopenia, leucopenia, neutropenia, petequias		
Decision Tree Algorithms Predict the Diagnosis and Outcome of Dengue Fever in the Early Phase of Illness	*Lukas Tanner*	2008	***Singapur, Vietnam***	D=364 DF=173 DHF= 171 DSS 20 836= ND	Adultos y pediátricos , TES < 72 hs	Árbol de decisión	(3) plaquetopenia <193 000 , leucopenia <3000, T> 37,5 C, plaquetas < 143000	**71,2**	**90,1**
Dengue Fever Scoring System: New Strategy for the Early Detection of Acute Dengue Virus Infection in Taiwan	*Ko Chang*	2009	***Taiwán***	1 stage D=89 vs Q fever/rickettsial =153 2 stage D=193(3 DHF) ND=305	aislamiento viral, RT PCR, IgM, IgG con reacción cruzada para EJ descartada	retrospectivo comparación con Q fever/rickettsial . Prospectivo D vs ND	**(7) score > 6** variables: área endémica 4, exantema 3, sangrados 3, fiebre 2, otros 1, fiebre >7d -8, foco infeccioso -10	**90,6**	**86,8**
Early clinical features of dengue infection in Puerto Rico	*Mary M. Ramos*	2009	***Puerto Rico***	adultos D= 107 ND =170 pediatras D=38 ND=121	dengue confirmado con IgM único titulo, RT PCR , no incluye parámetros laboratoriales	retrospectivo , análisis multivariado	(3) DRO, diarrea, ausencia de cvas		
The Early Clinical Features of Dengue in Adults: Challenges for Early Clinical Diagnosis	*Jenny G. H. Low*	2011	**Singapur**	D= 250 OFI=1879 Influenza= 228	> 18 años < 72 hs seguidos 4 W TIS dengue confirmado por RT PCR	prospectivo	(11) artralgia, anorexia, DRO, nauseas, vómitos, exantema, alteración del gusto, plaquetopenia, leucopenia, linfocitosis y neutropenia		
Clinical and laboratory predictive markers for acute dengue infection	*Tzong-Shiann Ho*	2013	***Taiwan,*** *National Cheng Kung University, Tainan*	D=309 adultos 67 pediátricos	Adultos y pediátricos, IgM o RT PCR, descartan EJ en contexto del brote 2007	retrospectivo	(7) exantema, mialgias, test torniquete, leucopenia, plaquetopenia, TGP, KPTT		
Dengue from other febrile illnesses: a diagnostic dengue from other febrile illnesses	*Regina P Daumas*	2016	***Brasil*** *Rio de Janeiro FIOCRUZ*	D=69 ND=73	criterios OMS 2009	regresión logistica	(3) exantema, infección conjuntival , leucopenia	**81**	**71**
A predictive model to differentiate dengue from other febrile illness	*Eduardo Fernández*	2016	***Honduras***	D= 390 ND=158	diagnóstico < 5 días por AV > 5 d IgM. In-out patients todas las edades, no incluye parámetros laboratorio	cohorte retrospectivo regresión logistica	(5) petequias, DRO, epistaxis, gingivorragia, piel pálida	**86,2**	**27**
Clinical markers associated with acute laboratory-confirmed Dengue infection: results of a national epidemiological surveillance system	*Efrén Murillo-Zamora*	2017	***México,*** *Departamento de Epidemiología. Colima, Colima, México.*	D=2772 ND=2775	Adultos y pediátricos macheados confirmados por NS-1 o IgM, no considera TES, no utiliza parámetros laboratorio	caso control, regresión logistica	(3) exantema, fragilidad capilar aumentada, vómitos persistentes		
Diagnóstico del dengue en Colombia diagnóstico del dengue en Colombia	*Diana María Caicedo*	2019	***Colombia***	D=662 ND= 325 validación externa D=79 ND=382	pacientes con SFA < a 96 hs 2003 y 2011 en zonas endémicas de Colombia confirmados NS 1 y RT PCR	transversal, fuentes secundarias con métodos bayesianos	(8) tras la revisión bibliográfica los expertos clasificaron las variables en 8 categorías incluyen hemograma en paréntesis la validación externa	**76,5 (11,1%)**	**46,5 (91,9%)**

Tabla-8 .Comparación de los diferentes scores propuestos para diferenciar enfermedad por DENV vs OSFA.

18.f Discusión de la efectividad y factibilidad del score para ser aplicado

El objetivo primario del este trabajo fue la construcción de un score diagnóstico (denominado **Denscore**) para identificar a los pacientes con dengue en estadios tempranos de la enfermedad, es por esto que se decidió utilizar parámetros clínicos y laboratoriales que sean de fácil acceso y puedan ser aplicables en el primer nivel de atención ya sea por especialistas o médicos generalistas.

Con este objetivo, se compararon dos grupos: Grupo dengue (G-DEN n= 130) y Grupo Otros Síndromes Febriles Agudos (G-OSFA; n= 54). Si bien la cantidad de pacientes incluidos en este estudio es pequeña, tanto los criterios de inclusión como de exclusión en ambos grupos fueron estrictos, asegurando que no haya un "missmatch" entre grupos. Cuando comparamos ambos grupos las variables que obtuvieron significación estadística en el modelo univariado fueron: mialgias (p=0,001), vómitos (p=0,004), ausencia de CVAS y odinofagia (p=0,01) y plaquetopenia (p=0,01). Todas estas variables, que se pueden presentar en etapas tempranas de la enfermedad , tienen una frecuencia relativamente alta en casi todas las series de casos, por lo que se las consideró aptas para la construcción de un modelo predictor temprano.

En el modelo de regresión logística múltiple se identificó como predictores tempranos a las **mialgias, la plaquetopenia y vómitos.** Según nuestros resultados la probabilidad de confirmación de dengue por métodos virológicos en un paciente que presenta estas 3 variables y ausencia de CVAS se estimó entre un **91,67% y 95,94% (ROC= 0,74).** Todas las variables propuestas en este modelo son factibles de ser utilizadas en el primer nivel de atención y sin necesitar mayor complejidad que un hemograma.

Previamente en el estado del Arte hemos presentado otros trabajos que tenían como objetivo primario generar scores diagnóstico de dengue, algunos de ellos incluso fueron pensados para buscar variables en etapas tempranas de la enfermedad. Los estudios citados se representan en la **tabla-8**.

Como podemos observar la comparación entre estos trabajos y nuestros resultados es difícil de interpretar debido a las diferencias metodológicas utilizadas: los criterios de inclusión fueron diferentes, el tiempo de presentación de la enfermedad, la cantidad de variables para la construcción del modelo y finalmente la metodología para arribar a las conclusiones estadísticas.

Si analizamos las variables de este score por separado se puede concluir que:

Las **Mialgias** constituyen un síntoma mas frecuente en pacientes con dengue, lo cual le otorga buena sensibilidad, pero también lo es en el G-OSFA por lo que su especificidad es acotada. La **plaquetopenia** es menos frecuente que las mialgias pero mantiene una sensibilidad aceptable y a su vez es una variable bastante específica del dengue, no muchos cuadros virales o enfermedades infecciosas se presentan con plaquetopenia en los primeros días de enfermedad con la frecuencia que lo hace el dengue. La presencia de **vómitos** tuvo una frecuencia de presentación modesta, pero su utilidad en conjunto con las otras variables le otorga robustez al score, además de que permitiría captar a los pacientes que podrían ser graves con potenciales signos de alarma. Finalmente la ausencia de **cuadro de vía aérea superior**, es un signo clínico vital para orientarnos en el Síndrome febril agudo, la presencia de CVAS tiene un VPN alto para dengue.

El Denscore, en el contexto epidemiológico descripto, tiene una efectividad para diagnosticar dengue que ronda el **87,3 %** cuando 2 de los 3 parámetros están presentes en ausencia de CVAS y del **91.6 -95%** cuando las tres variables se presentan, además presento un **ROC = 0,74** en nuestro modelo. Resultados similares se han obtenido en otros trabajos, sin embargo, creemos importante destacar que la efectividad obtenida se realizó sólo con 4 variables (3 clínicas y 1 de laboratorio) lo cual lo convierten en un score relativamente sencillo de realizar cumpliendo con la premisa de ser una herramienta para el primer nivel de atención. Para realizar el Denscore sólo debemos interrogar al paciente y realizar un hemograma, en caso de no contar con pruebas de laboratorio, aún así la efectividad de Denscore es cercana al 90%. Por otro lado, estos valores fueron obtenidos en etapas tempranas, donde es más difícil poder diferenciar el dengue de otras causas.

De los trabajos a los cuales tuvimos acceso sólo 4 consideraron los días de enfermedad en los criterios de inclusión:

En el estudio de ***Chadwick 2005*** (163), realizado en Singapur de manera prospectiva se analizaron parámetros clínicos y de laboratorio presentados en las primeras 48hs por los pacientes con diagnóstico serológico de dengue mediante regresión logística. De los 381 pacientes estudiados, 148 tenían dengue confirmado serológicamente. La mayoría de ellos tenían dengue sin complicaciones y sólo el 9% dengue hemorrágico. Un modelo basado únicamente en las características clínicas pudo diferenciar el dengue OSFA con una sensibilidad del 74% y una especificidad del 79%. Finalmente la construcción de un modelo con dos variables: **exantema y la leucopenia** alcanzó una sensibilidad del 84% y una especificidad del 85%.

Lukas Tanner y Col (2008)(164) proponen para la identificación temprana de pacientes dengue vs OSFA un algoritmo hecho en base a parámetros clínicos laboratoriales para ello reclutaron un total de 1.200 pacientes que se presentaron en las primeras 72 horas de enfermedad febril aguda y se les dió seguimiento prospectivo durante un período de hasta 4 semanas; 1.012 de ellos fueron reclutados en Singapur y 188 en Vietnam. Del total de 1200 paciente el 30% fue diagnosticado con dengue, clasificándose el resto (836 pacientes) como ND/OSFA. Los autores proponen un árbol de decisión donde se utilizó la **temperatura** (>37,4 C), el recuento de **plaquetas** (<193.000) y los **glóbulos blancos** (<6000) para poder clasificar un caso de dengue con una precisión de un 84,7% .

En un trabajo realizado en Colombia por ***Caicedo y co***l(158) se propuso generar distintos algoritmos para el diagnóstico de Dengue vs OSFA, para ello se analizaron 987 registros de la base de datos de la cohorte de la Red Aedes, de los cuales, 662 eran casos de dengue y 325 no lo eran; 534 tenían datos del hemograma y, de ellos, 392 eran casos de dengue y 142 no lo eran. Se encontró una proporción significativamente mayor de erupciones cutáneas, manifestaciones hemorrágicas, signos de alarma y alteraciones neurológicas entre los pacientes con dengue. El algoritmo de mayor exactitud incluyó los parámetros del hemograma, con una sensibilidad de 76,5 % (IC95% 71,9-80,5) y una especificidad de 46,0 % (IC95% 37,6-54,7).La validación externa se hizo en una base de datos con 461 observaciones. La mediana de días de fiebre fue de tres días para ambos grupos. pero en este caso la sensibilidad fue de 11,1 % (IC95% 4,9-20,7) y la especificidad fue de 91,9 %, siendo inferior a las otras clasificaciones más usadas en Colombia con las que se comparó. Cabe destacar que la proporción de pacientes con dengue vs Dengue Hemorrágico o shock por dengue fue casi la misma en este estudio (173 vs 171) por lo cual algunos de los parámetros del laboratorio podrían estar asociados a la gravedad de la enfermedad y no ser

tan útiles para el diagnóstico en etapas tempranas. Además la nueva clasificación de la OMS fue posterior a la realización del mismo.

***J G H Low y Col* (2011)**(165) realizaron un ensayo prospectivo en 2.129 adultos con SFA de menos de 72hs evolución, de los cuales 250 (11,7%) tenían dengue y el resto fueron clasificados como OSFA e influenza. Los pacientes fueron seguidos durante un período de 3-4 semanas para determinar el resultado clínico. **Artralgias, pérdida de apetito, náuseas, vómitos, alteración del gusto, erupciones y rash** se notificaron con mayor frecuencia en pacientes con dengue en comparación con OSFA o influenza. Los recuentos medios de plaquetas, leucocitos, linfocitos y neutrófilos fueron significativamente más bajos en dengue en comparación con grupo OSFA/influenza. Los pacientes con dengue experimentaron una duración más prolongada de la enfermedad en comparación con el OSFA y la influenza y una mayor proporción de ellos (46,4%) fueron hospitalizados.

Podemos concluir que en todos los estudios los parámetros como la leucopenia y la plaquetopenia son esenciales para construir un score diagnóstico de dengue. En cuanto a los signos y síntomas no se puede establecer según estos resultados cuáles serían las variables más eficientes para la construcción del score, esto puede deberse a múltiples factores: las características propias de la población pueden hacerlas más susceptibles a ciertas presentaciones clínicas, como por ejemplo las manifestaciones dermatológicas no son igualmente observadas en individuos de diferente raza. Por otro lado, los diferentes clados virales del dengue podrían tener un papel importante en cuanto a la forma de presentación clínica de la enfermedad produciendo mas síntomas digestivos o mas compromiso dermatológico según el clado.

Si bien se establecen ciertas diferencias todos estos trabajos asociaron a la definición típica de SFA por dengue síntomas digestivos y dermatológicos por lo que estas manifestaciones y el hemograma deberían ser evaluados en futuros ensayos clínicos controlados para poder llegar a una respuesta concluyente.

Es llamativo observar que casi ninguno de los scores-modelos analizados utiliza la **ausencia de síntomas respiratorios** para diferenciar dengue de OSFA. En un trabajo que comprendía tanto población adulta como pediátrica el dolor ocular, la diarrea y la ausencia de síntomas respiratorios superiores se asociaron de forma independiente con la infección por dengue confirmada por laboratorio. Sin embargo no se encontraron predictores tempranos útiles de la infección por dengue en adultos, sugiriendo que la confirmación de laboratorio sigue siendo necesaria para el diagnóstico preciso de la infección(162).

19. *Limitaciones*

Nuestro estudio tiene varias limitaciones:

La principal limitante fue el pequeño número de casos utilizados para la construcción del modelo de regresión logística, esto se debe a que muchos casos fueron clasificados como probables de dengue (no confirmados) debido a que sólo tenían una única prueba positiva para IgM, otros pacientes con Síndromes febriles agudos no se los incluyó en el G OSFA debido a que no se le realizo IgM tras una primera prueba por NS-1 o RT-PCR negativa quedando inconclusos.

Por otro lado, el carácter retrospectivo del estudio no permitió estandarizar ciertas variables de la sintomatología y quedaron a criterio del médico asistencial, como por ejemplo en qué casos un síntoma clínico, como los vómitos, es considerado un signo de alarma.

Otra limitante fue que la mayoría de los casos fueron diagnosticados en contexto de brote en un hospital especializado en enfermedades infecciosas, traspolar los resultados obtenidos en este estudio y compararlos en otros contextos epidemiológicos podría ser dificultoso.

En cuanto a las comorbilidades de los pacientes sólo se pudieron constatar algunas de ellas y tampoco se evaluó en este estudio la gravedad de las mismas ni la adherencia a los tratamientos (ej. sólo se recabó diabetes como antecedente, pero no su tratamiento ni el estado de la enfermedad). Por lo que los resultados obtenidos son incompletos como para poder establecer una relación entre los pacientes que presentaron signos de alarma y los que no.

Como ya se mencionó, este estudio fue diseñado y analizados sus datos previo a la pandemia por COVID-19, por lo tanto no pudimos evaluar la eficacia del **Denscore** en este nuevo contexto epidemiológico. No obstante, sí se incluyeron pacientes con los diagnósticos diferenciales mencionados en el estado del arte (CHIKV, Parvovirus, ZIKV, Rickettsiosis, Leptospirosis) por lo que quedaría pendiente en futuras investigaciones comprobar la sensibilidad del score en este nuevo contexto mundial.

20. *Conclusiones*

EL Denscore es un score compuesto por cuatro variables (mialgias, vómitos, plaquetopenia y ausencia de CVAS) el cual tuvo una sensibilidad para detectar dengue de un **91-95,9%,** aún si sólo se utilizan las variables clínicas el score mantiene una buena efectividad (85,28 - 89,68%).

Es un score sencillo, con variables fáciles de recordar, que no necesita un puntaje numérico (variables cualitativas) y que podría incluso ser implementado por muchos integrantes del sistema de salud. Es por esto que consideramos que el Denscore cumple con el objetivo primario de este trabajo: generar un score sensible, de fácil aplicación y utilización en el primer nivel de atención.

Para validar estos resultados y probar su desempeño en otros contextos epidemiológicos es necesario realizar un ensayo multicéntrico en el primer nivel de atención del sistema de salud que permita evaluar su utilidad como herramienta en el diagnóstico oportuno de la enfermedad.

.

21. *Bibliografía*

1. Hales S, De Wet N, Maindonald J, Woodward A. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. Lancet. 2002 Sep 14;360(9336):830–4.
2. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. Nature [Internet]. 2013 Apr 25 [cited 2020 Sep 8];496(7446):504–7. Available from: https://www.nature.com/articles/nature12060
3. Guzmán MG, García G, Kourí G. Dengue and dengue hemorrhagic fever: research priorities. Vol. 19, Revista panamericana de salud pública = Pan American journal of public health. 2006. p. 204–15.
4. World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. World Heal Organ. 2009;
5. Chong HY, Leow CY, Abdul Majeed AB, Leow CH. Flavivirus infection—A review of immunopathogenesis, immunological response, and immunodiagnosis. Virus Res [Internet]. 2019;274:197770. Available from: https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197770
6. Guzman MG, Harris E. Dengue. Lancet. 2015;385(9966):453–65.
7. Descloux E, Cao-Lormeau VM, Roche C, De Lamballerie X. Dengue 1 diversity and microevolution, French Polynesia 2001-2006: Connection with epidemiology and clinics. PLoS Negl Trop Dis. 2009;3(8).
8. Parameswaran P, Charlebois P, Tellez Y, Nunez A, Ryan EM, Malboeuf CM, et al. Genome-Wide Patterns of Intrahuman Dengue Virus Diversity Reveal Associations with Viral Phylogenetic Clade and Interhost Diversity. J Virol. 2012;86(16):8546–58.
9. Goncalvez AP, Escalante AA, Pujol FH, Ludert JE, Tovar D, Salas RA, et al. Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type 1. Virology [Internet]. 2002 [cited 2021 Apr 18];303(1):110–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12482662/
10. OhAinle M, Balmaseda A, Macalalad AR, Tellez Y, Zody MC, Saborío S, et al. Dynamics of dengue disease severity determined by the interplay between viral genetics and serotype-specific immunity. Sci Transl Med [Internet]. 2011 Dec 21 [cited 2021 Apr 18];3(114). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22190239/
11. Holmes EC, Twiddy SS. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus [Internet]. Vol. 3, Infection, Genetics and Evolution. Infect Genet Evol; 2003 [cited 2021 Mar 14]. p. 19–28. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12797969/
12. Shrivastava A, Soni M, Shrivastava S, Sharma S, Dash PK, Gopalan N, et al. Lineage shift of dengue virus in Eastern India: An increased implication for DHF/DSS. Epidemiol Infect [Internet]. 2015 Mar 15 [cited 2021 Apr 18];143(8):1599–605. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25314901/
13. Choudhury MA, Lott WB, Aaskov J. Distribution of fitness in populations of dengue viruses. PLoS One [Internet]. 2014 Sep 15 [cited 2021 Apr 18];9(9). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25222471/
14. Hang VTT, Holmes EC, Veasna D, Quy NT, Hien TT, Quail M, et al. Emergence of the Asian 1 genotype of dengue Virus serotype 2 in viet Nam: in vivo fitness advantage and lineage replacement in South-East Asia. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2010 [cited 2021 Apr 18];4(7). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20651932/
15. Rico-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, Tovar D, Nisalak A, Ramos C, et al. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. Virology [Internet]. 1997 Apr 14 [cited 2021 Apr 18];230(2):244–51. Available from:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9143280/
16. Wittke V, Robb TE, Thu HM, Nisalak A, Nimmannitya S, Kalayanrooj S, et al. Extinction and rapid emergence of strains of dengue 3 virus during an interepidemic period. Virology [Internet]. 2002 [cited 2021 Apr 18];301(1):148–56. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12359455/
17. Williams M, Mayer S V., Johnson WL, Chen R, Volkova E, Vilcarromero S, et al. Lineage II of southeast Asian/American DENV-2 is associated with a severe dengue outbreak in the Peruvian Amazon. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2021 Apr 18];91(3):611–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25002298/
18. Harapan H, Michie A, Yohan B, Shu PY, Mudatsir M, Sasmono RT, et al. Dengue viruses circulating in Indonesia: A systematic review and phylogenetic analysis of data from five decades [Internet]. Vol. 29, Reviews in Medical Virology. John Wiley and Sons Ltd; 2019 [cited 2021 Apr 18]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31099110/
19. Nasirudeen AMA, Wong HH, Thien P, Xu S, Lam KP, Liu DX. RIG-i, MDA5 and TLR3 synergistically play an important role in restriction of dengue virus infection. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2011 [cited 2020 Aug 2];5(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21245912/
20. Halstead SB, Mahalingam S, Marovich MA, Ubol S, Mosser DM. Intrinsic antibody-dependent enhancement of microbial infection in macrophages: Disease regulation by immune complexes [Internet]. Vol. 10, The Lancet Infectious Diseases. Lancet Publishing Group; 2010 [cited 2020 Aug 2]. p. 712–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20883967/
21. Aguirre S, Maestre AM, Pagni S, Patel JR, Savage T, Gutman D, et al. DENV Inhibits Type I IFN Production in Infected Cells by Cleaving Human STING. PLoS Pathog [Internet]. 2012 Oct [cited 2020 Aug 2];8(10). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23055924/
22. Teoh EP, Kukkaro P, Teo EW, Lim APC, Tan TT, Yip A, et al. The structural basis for serotype-specific neutralization of dengue virus by a human antibody. Sci Transl Med [Internet]. 2012 Jun 20 [cited 2020 Aug 2];4(139). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22723463/
23. de Alwis R, Beltramello M, Messer WB, Sukupolvi-Petty S, Wahala WMPB, Kraus A, et al. In-Depth Analysis of the Antibody Response of Individuals Exposed to Primary Dengue Virus Infection. Rico-Hesse R, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2011 Jun 21 [cited 2020 Aug 2];5(6):e1188. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001188
24. Smith SA, Zhou Y, Olivarez NP, Broadwater AH, de Silva AM, Crowe JE. Persistence of Circulating Memory B Cell Clones with Potential for Dengue Virus Disease Enhancement for Decades following Infection. J Virol [Internet]. 2012 Mar 1 [cited 2020 Aug 2];86(5):2665–75. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22171265/
25. Zompi S, Montoya M, Pohl MO, Balmaseda A, Harris E. Dominant cross-reactive B cell response during secondary acute dengue virus infection in humans. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2012 Mar [cited 2020 Aug 2];6(3). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22448292/
26. Rothman AL. Immunity to dengue virus: A tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms [Internet]. Vol. 11, Nature Reviews Immunology. Nat Rev Immunol; 2011 [cited 2020 Aug 2]. p. 532–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21760609/
27. Lühn K, Simmons CP, Moran E, Dung NTP, Chau TNB, Quyen NTH, et al. Increased frequencies of CD4+CD25high regulatory T cells in acute dengue infection. J Exp Med [Internet]. 2007 May [cited 2020 Aug 2];204(5):979–85. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17452519/
28. Cummings DAT, Schwartz IB, Billings L, Shaw LB, Burke DS. Dynamic effects of antibody-dependent enhancement on the fitness of viruses. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2005 Oct 18 [cited 2020 Aug 2];102(42):15259–64. Available from:

/pmc/articles/PMC1257724/?report=abstract
29. Luplerdlop N, Missé D, Bray D, Deleuze V, Gonzalez JP, Leardkamolkarn V, et al. Dengue-virus-infected dendritic cells trigger vascular leakage through metalloproteinase overproduction. EMBO Rep [Internet]. 2006 [cited 2020 Aug 2];7(11):1176–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17028575/
30. Puerta-Guardo H, Raya-Sandino A, Gonzalez-Mariscal L, Rosales VH, Ayala-Davila J, Chavez-Mungia B, et al. The Cytokine Response of U937-Derived Macrophages Infected through Antibody-Dependent Enhancement of Dengue Virus Disrupts Cell Apical-Junction Complexes and Increases Vascular Permeability. J Virol [Internet]. 2013 Jul 1 [cited 2020 Aug 2];87(13):7486–501. Available from: /pmc/articles/PMC3700291/?report=abstract
31. St John AL, Rathore APS, Raghavan B, Ng ML, Abraham SN. Contributions of mast cells and vasoactive products, leukotrienes and chymase, to dengue virus-induced vascular leakage. Elife [Internet]. 2013 Apr 30 [cited 2020 Aug 2];2013(2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23638300/
32. Kelley JF, Kaufusi PH, Nerurkar VR. Dengue hemorrhagic fever-associated immunomediators induced via maturation of dengue virus nonstructural 4B protein in monocytes modulate endothelial cell adhesion molecules and human microvascular endothelial cells permeability. Virology. 2012 Jan 20;422(2):326–37.
33. Halstead SB. Pathogenesis: Risk Factors Prior to Infection. In 2008. p. 219–56.
34. Sierra BDLC, Kourí G, Guzmán MG. Race: A risk factor for dengue hemorrhagic fever. Arch Virol [Internet]. 2007 Mar [cited 2020 Aug 2];152(3):533–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17106622/
35. Guzmán MG, Kourí G, Valdés L, Bravo J, Vázquez S, Halstead SB. Enhanced severity of secondary dengue-2 infections: Death rates in 1981 and 1997 Cuban outbreaks. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal [Internet]. 2002 [cited 2020 Aug 2];11(4):223–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12049030/
36. A shorter time interval between first and second dengue infections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand - PubMed [Internet]. [cited 2020 Aug 2]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23964110/
37. Gibbons R V., Kalanarooj S, Jarman RG, Nisalak A, Vaughn DW, Endy TP, et al. Analysis of repeat hospital admissions for dengue to estimate the frequency of third or fourth dengue infections resulting in admissions and dengue hemorrhagic fever, and serotype sequences. Am J Trop Med Hyg. 2007;77(5):910–3.
38. Reduced risk of disease during postsecondary dengue virus infections - PubMed [Internet]. [cited 2020 Aug 2]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23776195/
39. Perez AB, Sierra B, Garcia G, Aguirre E, Babel N, Alvarez M, et al. Tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-β1, and interleukin-10 gene polymorphisms: Implication in protection or susceptibility to dengue hemorrhagic fever. Hum Immunol [Internet]. 2010 Nov [cited 2020 Aug 2];71(11):1135–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20732366/
40. Sierra B, Alegre R, Pérez AB, García G, Sturn-Ramirez K, Obasanjo O, et al. HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele frequencies in Cuban individuals with antecedents of dengue 2 disease: Advantages of the Cuban population for HLA studies of dengue virus infection. Hum Immunol [Internet]. 2007 Jun [cited 2020 Aug 2];68(6):531–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17509453/
41. Khor CC, Chau TNB, Pang J, Davila S, Long HT, Ong RTH, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for dengue shock syndrome at MICB and PLCE1. Nat Genet [Internet]. 2011 Nov [cited 2020 Aug 2];43(11):1139–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22001756/
42. Pesante D. Capitulo XII. Los mosquitos (Culicidae). Univ Puerto Rico Recinto Univ Mayaguez.

2010;En Interne.
43. Rezza G. Aedes albopictus and the reemergence of Dengue [Internet]. Vol. 12, BMC Public Health. BioMed Central; 2012 [cited 2020 Aug 9]. p. 1–3. Available from: https://link.springer.com/articles/10.1186/1471-2458-12-72
44. Eiman M, Introini M, Ripoll C. Directrices para la prevención y control de Aedes aegypti. 2016;1–78. Available from: http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000235cnt-01-directrices-dengue-2016.pdf
45. Surasombatpattana P, Ekchariyawat P, Hamel R, Patramool S, Thongrungkiat S, Denizot M, et al. Aedes aegypti saliva contains a prominent 34-kDa protein that strongly enhances dengue virus replication in human keratinocytes [Internet]. Vol. 134, Journal of Investigative Dermatology. Nature Publishing Group; 2014 [cited 2020 Aug 9]. p. 281–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23752041/
46. Schneider BS, Soong L, Zeidner NS, Higgs S. Aedes aegypti salivary gland extracts modulate anti-viral and T H1/TH2 cytokine responses to sindbis virus infection. Viral Immunol [Internet]. 2004 Dec 15 [cited 2020 Aug 9];17(4):565–73. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/vim.2004.17.565
47. Ader DB, Celluzzi C, Bisbing J, Gilmore L, Gunther V, Peachman KK, et al. Modulation of Dengue Virus Infection of Dendritic Cells by *Aedes aegypti* Saliva. Viral Immunol [Internet]. 2004 Jun 30 [cited 2020 Aug 9];17(2):252–65. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/0882824041310496
48. Styer LM, Lim P-Y, Louie KL, Albright RG, Kramer LD, Bernard KA. Mosquito Saliva Causes Enhancement of West Nile Virus Infection in Mice. J Virol [Internet]. 2011 Feb 15 [cited 2020 Aug 9];85(4):1517–27. Available from: http://jvi.asm.org/
49. Laven H. Eradication of culex pipiens fatigans through cytoplasmic incompatibility [27] [Internet]. Vol. 216, Nature. Nature Publishing Group; 1967 [cited 2020 Sep 6]. p. 383–4. Available from: https://www.nature.com/articles/216383a0
50. Dobson SL, Fox CW, Jiggins FM. The effect of *Wolbachia* -induced cytoplasmic incompatibility on host population size in natural and manipulated systems. Proc R Soc London Ser B Biol Sci [Internet]. 2002 Mar 7 [cited 2020 Sep 6];269(1490):437–45. Available from: https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2001.1876
51. Mousson L, Zouache K, Arias-Goeta C, Raquin V, Mavingui P, Failloux A-B. The Native Wolbachia Symbionts Limit Transmission of Dengue Virus in Aedes albopictus. O'Neill SL, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2012 Dec 27 [cited 2020 Sep 6];6(12):e1989. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0001989
52. Fu G, Lees RS, Nimmo D, Aw D, Jin L, Gray P, et al. Female-specific flightless phenotype for mosquito control. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2010 Mar 9 [cited 2020 Sep 6];107(10):4550–4. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1014662107www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1014494107www.pnas.org
53. Phuc H, Andreasen MH, Burton RS, Vass C, Epton MJ, Pape G, et al. Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. BMC Biol [Internet]. 2007 Mar 20 [cited 2020 Sep 6];5(1):1–11. Available from: https://link.springer.com/articles/10.1186/1741-7007-5-11
54. Harris AF, McKemey AR, Nimmo D, Curtis Z, Black I, Morgan SA, et al. Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes [Internet]. Vol. 30, Nature Biotechnology. Nature Publishing Group; 2012 [cited 2020 Sep 6]. p. 828–30. Available from: https://www.nature.com/articles/nbt.2350
55. Franz AWE, Sanchez-Vargas I, Adelman ZN, Blair CD, Beaty BJ, James AA, et al. Engineering RNA interference-based resistance to dengue virus type 2 in genetically modified Aedes aegypti. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2006 Mar 14 [cited 2020 Sep 6];103(11):4198–

203. Available from: www.pnas.orgcgidoi10.1073pnas.0600479103
56. Ministerio de Salud de la Nación-Argentina, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. Estrategia de Gestión Integrada de prevención y control de dengue para Argentina. 2007;1–80. Available from: http://www2.paho.org/hq/dmdocuments/2010/EGI ARGENTINA.pdf
57. Rodríguez Cruz R. Estrategias para el control del dengue y del Aedes aegypti en las Américas. Rev Cuba med trop. 2002;54(3):189–201.
58. Pan American Health Organization. State of the Art in the Prevention and Control of Dengue in the Americas. Meet Rep [Internet]. 2014;53. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=&gid=27233&lang=en
59. TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL 2O12-2O2O [Internet]. 2012 [cited 2020 Sep 8]. Available from: www.who.int/neglected_diseases/en
60. Shepard DS, Coudeville L, Halasa YA, Zambrano B, Dayan GH. Economic impact of dengue illness in the Americas. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2011 Feb [cited 2020 Sep 8];84(2):200–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21292885/
61. World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. World Heal Organ. 2009;https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23762963.
62. Alves MJ, Fernandes PL, Amaro F, Osório H, Luz T, Parreira P, et al. Clinical presentation and laboratory findings for the first autochthonous cases of dengue fever in Madeira Island, Portugal, October 2012. Eurosurveillance [Internet]. 2013 Feb 7 [cited 2020 Sep 8];18(6):20398. Available from: https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.18.06.20398-en
63. Muhanguzi D, Okello WO, Kabasa JD, Waiswa C, Welburn SC, Shaw APM. Cost analysis of options for management of African Animal Trypanosomiasis using interventions targeted at cattle in Tororo District; South-eastern Uganda. Parasites and Vectors. 2015 Jul 22;8(1).
64. Meltzer MI, Rigau-Pérez JG, Clark GG, Reiter P, Gubler DJ. Using disability-adjusted life years to assess the economic impact of dengue in Puerto Rico: 1984-1994. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 1998 [cited 2021 Nov 29];59(2):265–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9715944/
65. Shepard DS, Suaya JA, Halstead SB, Nathan MB, Gubler DJ, Mahoney RT, et al. Cost-effectiveness of a pediatric dengue vaccine. Vaccine [Internet]. 2004 Mar 12 [cited 2021 Nov 29];22(9–10):1275–80. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15003657/
66. Nunes PCG, Daumas RP, Sánchez-Arcila JC, Nogueira RMR, Horta MAP, Dos Santos FB. 30 years of fatal dengue cases in Brazil: a review. BMC Public Health [Internet]. 2019 Mar 21 [cited 2021 Nov 29];19(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30898104/
67. Wilson ME, Weld LH, Boggild A, Keystone JS, Kain KC, Von Sonnenburg F, et al. Fever in returned travelers: Results from the GeoSentinel Surveillance Network. Clin Infect Dis [Internet]. 2007 Jun 15 [cited 2021 May 13];44(12):1560–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17516399/
68. Medline ® Abstract for Reference 7 of “Evaluation of fever in the returning traveler” - UpToDate [Internet]. [cited 2021 Apr 26]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/evaluation-of-fever-in-the-returning-traveler/abstract/7
69. Mukhopadhyay S, Kuhn RJ, Rossmann MG. A structural perspective of the Flavivirus life cycle [Internet]. Vol. 3, Nature Reviews Microbiology. Nat Rev Microbiol; 2005 [cited 2021 Mar 14]. p. 13–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15608696/
70. Istúriz RE, Gubler DJ, Castillo JB del. Dengue and dengue hemorrhagic fever in Latin America and the Caribbean. Infect Dis Clin North Am. 2000;14(1):121–40.

71. Dick OB, San Martín JL, Montoya RH, Del Diego J, Zambrano B, Dayan GH. Review: The history of dengue outbreaks in the Americas [Internet]. Vol. 87, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. Am J Trop Med Hyg; 2012 [cited 2021 Mar 14]. p. 584–93. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23042846/
72. PAHO/WHO Data - Dengue cases [Internet]. [cited 2021 Mar 14]. Available from: https://www.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/indicadores-dengue-en/dengue-nacional-en/252-dengue-pais-ano-en.html
73. PAHO/WHO Data - Incidence [Internet]. [cited 2021 Mar 14]. Available from: https://www.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/indicadores-dengue-en/dengue-nacional-en/254-dengue-incidencia-en.html?showall=&start=3
74. Endy TP, Chunsuttiwat S, Nisalak A, Libraty DH, Green S, Rothman AL, et al. Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: A prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. Am J Epidemiol [Internet]. 2002 Jul 1 [cited 2021 Jun 21];156(1):40–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12076887/
75. Fukusumi M, Arashiro T, Arima Y, Matsui T, Shimada T, Kinoshita H, et al. Dengue Sentinel Traveler Surveillance: Monthly and Yearly Notification Trends among Japanese Travelers, 2006–2014. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2016 Aug 19 [cited 2021 Jun 21];10(8). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27540724/
76. Cobra C, Rigau-pérez JG, Kuno G, Vomdam V. Symptoms of dengue fever in relation to host immunologic response and virus serotype, puerto rico, 1990-1991. Am J Epidemiol [Internet]. 1995 Dec 1 [cited 2021 Jun 21];142(11):1204–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7485067/
77. Srikiatkhachorn A, Gibbons R V., Green S, Librety DH, Thomas SJ, Endy TP, et al. Dengue Hemorrhagic fever: The sensitivity and specificity of the world health organization definition for identification of severe cases of dengue in Thailand, 1994-2005. Clin Infect Dis [Internet]. 2010 Apr 15 [cited 2021 Jun 21];50(8):1135–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20205587/
78. Teoh BT, Sam SS, Tan KK, Johari J, Danlami MB, Hooi PS, et al. Detection of dengue viruses using reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. BMC Infect Dis [Internet]. 2013 Aug 21 [cited 2021 Apr 17];13(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23964963/
79. Cunha BA, Apostolopoulou A, Sivarajah T, Klein NC. Facial Puffiness in a Returning Traveler from Puerto Rico: Chikungunya, Dengue Fever, or Zika Virus? [Internet]. Vol. 63, Clinical Infectious Diseases. Oxford University Press; 2016 [cited 2021 Jun 22]. p. 1264–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27567120/
80. Narvaez F, Gutierrez G, Pérez MA, Elizondo D, Nuñez A, Balmaseda A, et al. Evaluation of the traditional and revised WHO classifications of dengue disease severity. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2011 Nov [cited 2021 Apr 19];5(11). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22087348/
81. Leder K, Torresi J, Brownstein JS, Wilson ME, Keystone JS, Barnett E, et al. Travel-associated illness trends and clusters, 2000-2010. Emerg Infect Dis [Internet]. 2013 Jul [cited 2021 Jun 22];19(7):1049–57. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23763775/
82. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S, Green S, Suntayakorn S, Kunentrasai N, et al. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. J Infect Dis [Internet]. 1997 [cited 2021 Jun 22];176(2):313–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9237695/
83. Neto R da JP, de Sá SLB, Pinho SC, Pucci FH, Teófilo CR, Evangelista PD, et al. Dengue infection in children and adolescents: Clinical profile in a reference hospital in northeast Brazil. Rev Soc Bras Med Trop [Internet]. 2013 Nov [cited 2021 Jun 22];46(6):765–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24474020/

84. Chia PY, Thein TL, Ong SWX, Lye DC, Leo YS. Severe dengue and liver involvement: an overview and review of the literature [Internet]. Vol. 18, Expert Review of Anti-Infective Therapy. Taylor and Francis Ltd; 2020 [cited 2021 Jun 22]. p. 181–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31971031/
85. Srikiatkhachorn A, Krautrachue A, Ratanaprakarn W, Wongtapradit L, Nithipanya N, Kalayanarooj S, et al. Natural history of plasma leakage in dengue hemorrhagic fever: A serial ultrasonographic study. Pediatr Infect Dis J [Internet]. 2007 Apr [cited 2021 Jun 22];26(4):283–90. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17414388/
86. Ferreira BDC, Correia D. Ultrasound Assessment of Hepatobiliary and Splenic Changes in Patients With Dengue and Warning Signs During the Acute and Recovery Phases. J Ultrasound Med [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2021 Jun 22];38(8):2015–24. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30549307/
87. Shu PY, Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. Vol. 11, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2004. p. 642–50.
88. Verma R, Sahu R, Holla V. Neurological manifestations of dengue infection: A review [Internet]. Vol. 346, Journal of the Neurological Sciences. Elsevier; 2014 [cited 2021 Jun 22]. p. 26–34. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25220113/
89. Carod-Artal FJ, Wichmann O, Farrar J, Gascón J. Neurological complications of dengue virus infection [Internet]. Vol. 12, The Lancet Neurology. Lancet Neurol; 2013 [cited 2021 Jun 22]. p. 906–19. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23948177/
90. Yacoub S, Griffiths A, Hong Chau TT, Simmons CP, Wills B, Hien TT, et al. Cardiac function in Vietnamese patients with different dengue severity grades. Crit Care Med [Internet]. 2012 [cited 2021 Jun 24];40(2):477–83. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21946658/
91. Miranda CH, Borges MDC, Matsuno AK, Vilar FC, Gali LG, Volpe GJ, et al. Evaluation of cardiac involvement during dengue viral infection. Clin Infect Dis [Internet]. 2013 Sep 15 [cited 2021 Jun 24];57(6):812–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23784923/
92. Salgado DM, Eltit JM, Mansfield K, Panqueba C, Castro D, Vega MR, et al. Heart and skeletal muscle are targets of dengue virus infection. Pediatr Infect Dis J [Internet]. 2010 [cited 2021 Jun 24];29(3):238–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20032806/
93. Shastri P, Gupta P, Kumar R. A prospective 3 year study of clinical spectrum and outcome of dengue fever in ICU from a tertiary care hospital in North India. Indian J Anaesth [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2021 Jun 24];64(3):181–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32346163/
94. Trunfio M, Savoldi A, Viganò O, d'Arminio Monforte A. Bacterial coinfections in dengue virus disease: what we know and what is still obscure about an emerging concern [Internet]. Vol. 45, Infection. Urban und Vogel GmbH; 2017 [cited 2021 Jun 24]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27448105/
95. Pimentel J, Zuluaga G, Borrero E, Andersson N. Factores clínicos y demográficos asociados con la mortalidad por dengue en Colombia: estudio de casos y controles. Salud Publica Mex [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 24];63(1):42–50. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33984217/
96. Anderson KB, Gibbons R V., Cummings DAT, Nisalak A, Green S, Libraty DH, et al. A shorter time interval between first and second dengue infections is associated with protection from clinical Illness in a school-based cohort in Thailand. J Infect Dis [Internet]. 2014 [cited 2021 Jun 24];209(3):360–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23964110/
97. Montoya M, Gresh L, Mercado JC, Williams KL, Vargas MJ, Gutierrez G, et al. Symptomatic Versus Inapparent Outcome in Repeat Dengue Virus Infections Is Influenced by the Time Interval between Infections and Study Year. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2013 [cited 2021

Jun 24];7(8). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23951377/
98. Dengue haemorrhagic fever Diagnosis, treatment, prevention and control SECOND EDITION Contents. 1997.
99. Wichmann O, Gascon J, Schunk M, Puente S, Siikamaki H, Gjørup I, et al. Severe dengue virus infection in travelers: Risk factors and laboratory indicators. J Infect Dis [Internet]. 2007 Apr 15 [cited 2021 Jun 24];195(8):1089–96. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17357044/
100. Srikiatkhachorn A, Gibbons R V., Green S, Librety DH, Thomas SJ, Endy TP, et al. Dengue Hemorrhagic fever: The sensitivity and specificity of the world health organization definition for identification of severe cases of dengue in Thailand, 1994-2005. Clin Infect Dis [Internet]. 2010 Apr 15 [cited 2021 Jun 24];50(8):1135–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20205587/
101. Anderson KB, Chunsuttiwat S, Nisalak A, Mammen MP, Libraty DH, Rothman AL, et al. Burden of symptomatic dengue infection in children at primary school in Thailand: a prospective study. Lancet [Internet]. 2007 Apr 28 [cited 2021 Jun 24];369(9571):1452–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17467515/
102. DENGUE GUIDELINES FOR DIAGNOSIS, TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL [Internet]. [cited 2021 Jun 24]. Available from: www.who.int/tdr
103. Handbook for CliniCal ManageMent of dengue [Internet]. 2012 [cited 2021 Jun 24]. Available from: http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html
104. Barniol J, Gaczkowski R, Barbato E V., da Cunha R V., Salgado D, Martínez E, et al. Usefulness and applicability of the revised dengue case classification by disease: Multi-centre study in 18 countries. BMC Infect Dis [Internet]. 2011 Apr 21 [cited 2021 Apr 19];11(1):106. Available from: https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-11-106
105. Gan VC, Lye DC, Thein TL, Dimatatac F, Tan AS, Leo Y-S. Implications of Discordance in World Health Organization 1997 and 2009 Dengue Classifications in Adult Dengue. Vasilakis N, editor. PLoS One [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2021 Apr 19];8(4):e60946. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0060946
106. Horstick O, Farrar J, Lum L, Martinez E, San Marti JL, Ehrenberg J, et al. Reviewing the development, evidence base, and application of the revised dengue case classification. Vol. 106, Pathogens and Global Health. 2012. p. 94–101.
107. Prasad D, Kumar C, Jain A, Kumar R. Accuracy and applicability of the revised WHO classification (2009) of dengue in children seen at a tertiary healthcare facility in northern India. Infection [Internet]. 2013 Aug [cited 2021 Apr 19];41(4):775–82. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23381875/
108. Horstick O, Farrar J, Lum L, Martinez E, San Martin JL, Ehrenberg J, et al. Pathogens and Global Health Reviewing the development, evidence base, and application of the revised dengue case classification. 2013 [cited 2021 Apr 19]; Available from: https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ypgh20
109. Guzman MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Hang VTT, Sekaran SD, Kroeger A, et al. Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2010 [cited 2021 Jun 24];4(8). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20824173/
110. Huits R, Soentjens P, Maniewski-Kelner U, Theunissen C, Van Den Broucke S, Florence E, et al. Clinical Utility of the Nonstructural 1 Antigen Rapid Diagnostic Test in the Management of Dengue in Returning Travelers With Fever. Open Forum Infect Dis [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2021 Jun 24];4(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28480265/
111. Plennevaux E, Moureau A, Arredondo-García JL, Villar L, Pitisuttithum P, Tran NH, et al. Impact of Dengue Vaccination on Serological Diagnosis: Insights from Phase III Dengue

Vaccine Efficacy Trials. Clin Infect Dis [Internet]. 2018 Apr 3 [cited 2021 Jun 24];66(8):1164–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29300876/
112. Jessie K, Fong MY, Devi S, Lam SK, Wong KT. Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization. J Infect Dis [Internet]. 2004 Apr 15 [cited 2021 Jun 24];189(8):1411–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15073678/
113. Dengue virus serotyping based on envelope and membrane and nonstructural protein NS1 serotype-specific capture immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays - PubMed [Internet]. [cited 2021 Apr 16]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15184425/
114. Tang KF, Eng &, Ooi E. Expert Review of Anti-infective Therapy Diagnosis of dengue: an update. 2014 [cited 2021 Apr 18]; Available from: https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ierz20
115. Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. J Clin Microbiol [Internet]. 2000 [cited 2021 Apr 17];38(3):1053–7. Available from: /pmc/articles/PMC86336/
116. Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, et al. High Circulating Levels of the Dengue Virus Nonstructural Protein NS1 Early in Dengue Illness Correlate with the Development of Dengue Hemorrhagic Fever. J Infect Dis [Internet]. 2002 Oct 15 [cited 2021 Apr 17];186(8):1165–8. Available from: https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/343813
117. Ho T-S, Wang S-M, Lin Y-S, Liu C-C. Clinical and laboratory predictive markers for acute dengue infection. J Biomed Sci [Internet]. 2013 Oct 20 [cited 2019 Jun 15];20(1):75. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24138072
118. Liu L, Wen K, Li J, Hu D, Huang Y, Qiu L, et al. Comparison of plaque- and enzyme-linked immunospot-based assays to measure the neutralizing activities of monoclonal antibodies specific to domain III of dengue virus envelope protein. Clin Vaccine Immunol. 2012 Jan;19(1):73–8.
119. Svenson JE. Imported malaria. Clinical presentation and examination of symptomatic travelers. Arch Intern Med [Internet]. 1995 Apr 24 [cited 2021 May 31];155(8):861–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7717795/
120. Marquez A, Djelouadji Z, Lattard V, Kodjo A. Overview of laboratory methods to diagnose leptospirosis and to identify and to type leptospires [Internet]. Vol. 20, International Microbiology. Springer; 2017 [cited 2021 Jun 25]. p. 184–93. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29529330/
121. Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santana FS, Mohr S, Melendez AXTO, et al. Impact of environment and social gradient on Leptospira infection in urban slums. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2008 Apr [cited 2021 Jun 25];2(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18431445/
122. Conlan J, Khounsy S, Inthavong P, Fenwick S, Blacksell S, Thompson RCA. A review of taeniasis and cysticercosis in the Lao People's Democratic Republic. Parasitol Int. 2008 Sep;57(3):252–5.
123. Amilasan AST, Ujiie M, Suzuki M, Salva E, Belo MCP, Koizumi N, et al. Outbreak of leptospirosis after flood, the Philippines, 2009. Emerg Infect Dis [Internet]. 2012 Jan [cited 2021 Jun 25];18(1):91–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22257492/
124. Vilaichone RK, Mahachai V, Wilde H. Acute acalculous cholecystitis in leptospirosis. J Clin Gastroenterol [Internet]. 1999 Oct [cited 2021 Jun 25];29(3):280–3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10509958/
125. De Francesco Daher E, Zanetta DMT, Abdulkader RCRM. Pattern of renal function recovery

after leptospirosis acute renal failure. Nephron - Clin Pract [Internet]. 2004 [cited 2021 Jun 25];98(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15361699/
126. Romero EC, Blanco RM, Yasuda PH. Aseptic meningitis caused by Leptospira spp diagnosed by polymerase chain reaction. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2010 [cited 2021 Jun 25];105(8):988–92. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21225195/
127. Seijo A, Romer Y, Juan JS, Prieto R, Nogueras M, de Vedia L, et al. Neumonia aguda de la comunidad y hemorragia pulmonar por leptospirosis en el area metropolitana Buenos Aires. Medicina (B Aires) [Internet]. 2011 [cited 2021 Jun 25];71(2):127–34. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21550928/
128. Von Ranke FM, Zanetti G, Hochhegger B, Marchiori E. Infectious diseases causing diffuse alveolar hemorrhage in immunocompetent patients: A state-of-the-art review [Internet]. Vol. 191, Lung. Lung; 2013 [cited 2021 Jun 25]. p. 9–18. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23128913/
129. Segura ER, Ganoza CA, Campos K, Ricaldi JN, Torres S, Silva H, et al. Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with quantification of leptospiral burden. Clin Infect Dis [Internet]. 2005 Feb 1 [cited 2021 Jun 25];40(3):343–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15668855/
130. Assimakopoulos SF, Fligou F, Marangos M, Zotou A, Psilopanagioti A, Filos KS. Anicteric leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome: A case series study. Am J Med Sci [Internet]. 2012 [cited 2021 Jun 25];344(4):326–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22739564/
131. Maroli M, Vadell MV, Padula P, Gómez Villafañe IE. Rodent abundance and hantavirus infection in protected area, east-central Argentina. Emerg Infect Dis [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2021 Jun 25];24(1):131–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29260665/
132. Martínez VP, Di Paola N, Alonso DO, Pérez-Sautu U, Bellomo CM, Iglesias AA, et al. “Super-Spreaders” and Person-to-Person Transmission of Andes Virus in Argentina. N Engl J Med [Internet]. 2020 Dec 3 [cited 2021 Jun 25];383(23):2230–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33264545/
133. Young JC, Hansen GR, Graves TK, Deasy MP, Humphreys JG, Fritz CL, et al. The incubation period of hantavirus pulmonary syndrome. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2000 [cited 2021 Jun 25];62(6):714–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11304061/
134. Seijo AC. Patogenia, fisiopatología, manifestaciones clinicas y tratamiento del sindrome pulmonar por hantavirus. Medicina (B Aires) [Internet]. 1998 [cited 2021 Jun 25];58(SUPPL. 1):19–24. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9674241/
135. Maleki KT, García M, Iglesias A, Alonso D, Ciancaglini M, Hammar U, et al. Serum markers associated with severity and outcome of hantavirus pulmonary syndrome. J Infect Dis [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2021 Jun 25];219(11):1832–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30698699/
136. Briggiler A, Sinchi A, Coronel F, Sánchez Z, Levis S, Taylor J, et al. New transmission scenarios of the argentine hemorrhagic fever since the introduction of the live attenuated junin virus vaccine (Candid #1): An experience in migrant workers. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2015 [cited 2021 Jun 25];32(1):165–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26102120/
137. PAHO/WHO | Fiebre Hemorrágica Argentina [Internet]. [cited 2021 Jun 25]. Available from: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=8306:2013-fiebre-hemorragica-argentina&Itemid=39845&lang=en
138. Walker DH. Rickettsiae and rickettsial infections: The current state of knowledge [Internet]. Vol. 45, Clinical Infectious Diseases. Clin Infect Dis; 2007 [cited 2021 Jun 25]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17582568/

139. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach [Internet]. Vol. 26, Clinical Microbiology Reviews. Clin Microbiol Rev; 2013 [cited 2021 Jun 25]. p. 657–702. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24092850/
140. Ripoll CM, Remondegui CE, Ordonez G, Arazamendi R, Fusaro H, Hyman MJ, et al. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 1999 [cited 2021 Jun 25];61(2):350–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10463693/
141. Romer Y, Seijo AC, Crudo F, Nicholson WL, Varela-Stokes A, Ryan Lash R, et al. Rickettsia parkeri rickettsiosis, Argentina. Emerg Infect Dis [Internet]. 2011 [cited 2021 Jun 25];17(7):1169–73. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21762568/
142. Taraphdar D, Sarkar A, Mukhopadhyay BB, Chatterjee S. Short report: A comparative study of clinical features between monotypic and dual infection cases with chikungunya virus and dengue virus in West Bengal, India. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2012 Apr [cited 2021 Jun 25];86(4):720–3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22492160/
143. Sharp TM, Fischer M, Muñoz-Jordán JL, Paz-Bailey G, Erin Staples J, Gregory CJ, et al. Dengue and zika virus diagnostic testing for patients with a clinically compatible illness and risk for infection with both viruses. MMWR Recomm Reports [Internet]. 2019 [cited 2021 Jun 25];68(1):1–10. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31194720/
144. Di Paola N, Mesquita FS, Oliveira DBL De, Villabona-Arenas CJ, Zaki Pour S, De Sousa-Capra C, et al. An outbreak of human parvovirus B19 hidden by dengue fever. Clin Infect Dis [Internet]. 2019 Feb 15 [cited 2021 Jun 25];68(5):810–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30304533/
145. Saphra I, Winter JW. Clinical Manifestations of Salmonellosis in Man. N Engl J Med [Internet]. 1957 Jun 13 [cited 2021 Jun 25];256(24):1128–34. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13452006/
146. Barnett ED. Yellow fever: Epidemiology and prevention. Clin Infect Dis [Internet]. 2007 Mar 15 [cited 2021 Jun 25];44(6):850–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17304460/
147. Ho YL, Joelsons D, Leite GFC, Malbouisson LMS, Song ATW, Perondi B, et al. Severe yellow fever in Brazil: Clinical characteristics and management. J Travel Med [Internet]. 2019 Jul 2 [cited 2021 Jun 25];26(5). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31150098/
148. Lau LLH, Cowling BJ, Fang VJ, Chan KH, Lau EHY, Lipsitch M, et al. Viral shedding and clinical illness in naturally acquired influenza virus infections. J Infect Dis [Internet]. 2010 May 15 [cited 2021 Jun 25];201(10):1509–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20377412/
149. Stokes EK, Zambrano LD, Anderson KN, Marder EP, Raz KM, El Burai Felix S, et al. Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance — United States, January 22–May 30, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep [Internet]. 2020 Jun 19 [cited 2021 Jun 1];69(24):759–65. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32555134/
150. Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. 2011.
151. Banco de Recursos de Comunicación del Ministerio de Salud de la Nación | Guía - Dengue [Internet]. [cited 2021 Apr 27]. Available from: https://bancos.salud.gob.ar/recurso/guia-dengue
152. MSP. Guía Para Equipo de Salud Dengue. Minist salud, Ecuador [Internet]. 2017;56. Available from: http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000062cnt-guia-dengue-2016.pdf
153. Mitrakul C, Poshyachinda M, Futrakul P, Sangkawibha N, Ahandrik S. Hemostatic and platelet kinetic studies in dengue hemorrhagic fever. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 1977

[cited 2021 Apr 27];26(5 I):975–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/907057/
154. Thomas L, Kaidomar S, Kerob-Bauchet B, Moravie V, Brouste Y, King JP, et al. Prospective observational study of low thresholds for platelet transfusion in adult dengue patients. Transfusion [Internet]. 2009 Jul [cited 2021 Apr 27];49(7):1400–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19320862/
155. Rajapakse S, de Silva NL, Weeratunga P, Rodrigo C, Fernando SD. Prophylactic and therapeutic interventions for bleeding in dengue: A systematic review. Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2021 Apr 27];111(10):433–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29385613/
156. Vacunas e inmunización: Dengue [Internet]. [cited 2021 Jun 26]. Available from: https://www.who.int/news-room/q-a-detail/dengue-vaccines
157. Phuong HL, de Vries PJ, Nga TTT, Giao PT, Hung LQ, Binh TQ, et al. Dengue as a cause of acute undifferentiated fever in Vietnam. BMC Infect Dis [Internet]. 2006 Jul 25 [cited 2021 Apr 25];6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16869969/
158. Caicedo-Borrero DM, Caicedo-Borrero DM, Tovar JR, Mendez A, Parra B, Bonelo A, et al. Development and performance of dengue diagnostic clinical algorithms in Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2020 Jun 1;102(6):1226–36.
159. Fernández E, Smieja M, Walter SD, Loeb M. A predictive model to differentiate dengue from other febrile illness. BMC Infect Dis [Internet]. 2016 Nov 22 [cited 2021 Apr 25];16(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27876005/
160. Tong SF, Aziz NA, Chin GL. Predictive value of thrombocytopaenia in the diagnosis of dengue infection in outpatient settings. Med J Malaysia. 2007;62(5):390–3.
161. Trujillo-Hernández B, Mendoza-Cano O, Guzmán-Esquivel J, Medina-González A, Higareda-Almaraz E, Higareda-Almaraz MA, et al. Clinical markers associated with acute laboratory-confirmed Dengue infection: results of a national epidemiological surveillance system. Rev Salud Pública. 2018;19(6):744–8.
162. Ramos MM, Tomashek KM, Arguello DF, Luxemburger C, Quiñones L, Lang J, et al. Early clinical features of dengue infection in Puerto Rico. Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]. 2009 Sep [cited 2021 Apr 25];103(9):878–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19111871/
163. Chadwick D, Arch B, Wilder-Smith A, Paton N. Distinguishing dengue fever from other infections on the basis of simple clinical and laboratory features: Application of logistic regression analysis. J Clin Virol. 2006 Feb;35(2):147–53.
164. Ooi EE, Simmons CP, Leo YS, Vasudevan SG, Hibberd ML, Ong A, et al. Decision Tree Algorithms Predict the Diagnosis and Outcome of Dengue Fever in the Early Phase of Illness. PLoS Negl Trop Dis. 2008;2(3):e196.
165. Low JGH, Ong A, Tan LK, Chaterji S, Chow A, Lim WY, et al. The early clinical features of dengue in adults: Challenges for early clinical diagnosis. PLoS Negl Trop Dis. 2011 May;5(5).
166. Potts JA, Rothman AL. Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations [Internet]. Vol. 13, Tropical Medicine and International Health. Trop Med Int Health; 2008 [cited 2021 Apr 25]. p. 1328–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18803612/
167. Seijo A, Romer Y, Espinosa M, Monroig J, Giamperetti S, Ameri D, et al. Brote de dengue autoctono en el Area Metropolitana Buenos Aires: Experiencia del hospital de enfermedades infecciosas F. J. Muñiz. Medicina (B Aires) [Internet]. 2009 [cited 2021 May 25];69(6):593–600. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20053596/
168. (No Title) [Internet]. [cited 2021 May 25]. Available from: http://www.economicas.uba.ar/wp-content/uploads/2017/09/Situación-espacial-de-las-desigualdades-socioeconómicas-en-la-CABA.pdf

169. Endy TP, Wang D, Polhemus ME, Jarman RG, Jasper LE, Gromowski G, et al. A Phase 1, Open-Label Assessment of a Dengue Virus-1 Live Virus Human Challenge Strain. J Infect Dis [Internet]. 2021 Jan 15 [cited 2021 Dec 5];223(2):258–67. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32572470/
170. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. J Infect Dis [Internet]. 1997 [cited 2021 Dec 5];176(2):322–30. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9237696/
171. Presentación de casos clínicos. [cited 2021 May 31]; Available from: http://dx.doi.org/10.5546/aap.2019.e63
172. Lin C-Y, Chen Y-C, Lee I-K, Chen Y-H, Huang C-H, Liu J-W, et al. Development of a Simple Clinical Risk Score for Early Prediction of Severe Dengue in Adult Patients. PLoS One [Internet]. 2016;11(5):e0154772. Available from: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0154772
173. Chang K, Lu PL, Ko WC, Tsai JJ, Tsai WH, Chen CD, et al. Dengue Fever Scoring System: New Strategy for the Early Detection of Acute Dengue Virus Infection in Taiwan. J Formos Med Assoc [Internet]. 2009 Nov [cited 2021 May 31];108(11):879–85. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19933032/
174. Potts JA, Rothman AL. Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations. Trop Med Int Heal [Internet]. 2008 Nov [cited 2019 Jun 15];13(11):1328–40. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18803612
175. Sakurai A, Sasaki T, Kato S, Hayashi M, Tsuzuki S, Ishihara T, et al. Natural History of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection. N Engl J Med [Internet]. 2020 Aug 27 [cited 2021 Jun 1];383(9):885–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32530584/
176. Oran DP, Topol EJ. The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic. Ann Intern Med [Internet]. 2021 May [cited 2021 Jun 1];174(5):655–62. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33481642/
177. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. N Engl J Med [Internet]. 2020 Apr 30 [cited 2021 Jun 1];382(18):1708–20. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32109013/
178. Directrices de la IDSA sobre el diagnóstico de COVID-19: pruebas de diagnóstico molecular [Internet]. [cited 2021 Jun 1]. Available from: https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-diagnostics/
179. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. JAMA - J Am Med Assoc [Internet]. 2020 Mar 17 [cited 2021 Jun 28];323(11):1061–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32031570/
180. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, Schenck EJ, Chen R, Jabri A, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. N Engl J Med [Internet]. 2020 Jun 11 [cited 2021 Jun 28];382(24):2372–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32302078/
181. Lorenz C, Azevedo TS, Chiaravalloti-Neto F. COVID-19 and dengue fever: A dangerous combination for the health system in Brazil [Internet]. Vol. 35, Travel Medicine and Infectious Disease. Elsevier USA; 2020 [cited 2021 Jun 1]. p. 101659. Available from: /pmc/articles/PMC7144614/
182. Miah MA, Husna A. Coinfection, coepidemics of COVID-19, and dengue in dengue-endemic countries: A serious health concern [Internet]. Vol. 93, Journal of Medical Virology. John Wiley and Sons Inc; 2021 [cited 2021 Jun 1]. p. 161–2. Available from: /pmc/articles/PMC7361212/
183. da Silva NS, Undurraga EA, Verro AT, Nogueira ML. Comparison between the traditional (1997) and revised (2009) WHO classifications of dengue disease: a retrospective study of 30 670 patients. Trop Med Int Heal. 2018;23(12):1282–93.

184. Thein TL, Gan VC, Lye DC, Yung CF, Leo YS. Utilities and Limitations of the World Health Organization 2009 Warning Signs for Adult Dengue Severity. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2013 [cited 2021 Jun 5];7(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23350013/
185. Horstick O, Martinez E, Guzman MG, San Martin JL, Ranzinger SR. WHO dengue case classification 2009 and its usefulness in practice: an expert consensus in the Americas. Pathog Glob Health [Internet]. 2015 [cited 2021 Jun 5];109(1):19–25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25630344/