



*Infección por virus del dengue y su relación con la trombocitopenia en pacientes del Laboratorio Clínico RECK-LAB, Flavio Alfaro 2023*

*Dengue virus infection and its relationship with thrombocytopenia in patients from the RECK-LAB Clinical Laboratory, Flavio Alfaro 2023*

*Infeção pelo vírus Dengue e a sua relação com a trombocitopenia em doentes do Laboratório Clínico RECK-LAB, Flavio Alfaro 2023*

Katherine Pierina Villa-Cedeño<sup>I</sup>  
[villa-katherine0871@unesum.edu.ec](mailto:villa-katherine0871@unesum.edu.ec)  
<https://orcid.org/0000-0001-5301-966X>

Jonathan Andrés Baque-Pin<sup>II</sup>  
[Jonathan.baque@unesum.edu.ec](mailto:Jonathan.baque@unesum.edu.ec)  
<https://orcid.org/0000-0001-9457-845X>

Tomas Joel Aveiga-Demera<sup>III</sup>  
[aveigademeratomasjoel@gmail.com](mailto:aveigademeratomasjoel@gmail.com)  
<https://orcid.org/0000-0002-1736-4172>

**Correspondencia:** [villa-katherine0871@unesum.edu.ec](mailto:villa-katherine0871@unesum.edu.ec)

Ciencias de la Salud  
Artículo de Investigación

\* **Recibido:** 29 de octubre de 2024 \* **Aceptado:** 04 de noviembre de 2024 \* **Publicado:** 30 de diciembre de 2024

- I. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Instituto de Posgrado, Maestría en Ciencias del Laboratorio Clínico, Jipijapa, Provincia de Manabí, Ecuador.
- II. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Instituto de Posgrado, Maestría en Ciencias del Laboratorio Clínico, Jipijapa, Provincia de Manabí, Ecuador.
- III. Universidad Estatal del Sur de Manabí, Instituto de Posgrado, Maestría en Ciencias del Laboratorio Clínico, Jipijapa, Provincia de Manabí, Ecuador.

## Resumen

El dengue es la arbovirosis de mayor casuística en el mundo. En el dengue, las plaquetas contribuyen a la patogénesis, pero los mecanismos de activación y consumo no se comprenden aún. El objetivo de esta investigación fue determinar la infección por virus del dengue y su relación con la trombocitopenia en pacientes del laboratorio clínico RECK-LAB, Flavio Alfaro. Se realizó un estudio observacional de tipo analítico, transversal y retrospectivo. La muestra fue de 295 adultos con diagnóstico serológico de infección, seleccionados bajo criterios de inclusión/exclusión. En los resultados más relevantes se puso identificar que la frecuencia de infección por dengue, según el sexo y la edad de los pacientes, fue de 59,7% en la población femenina; se observó una frecuencia homogénea de la infección desde los 18 hasta los 57 años, siendo más alta que en los grupos de mayores de 58 años. Con respecto a la trombocitopenia se encontró que el 45,8% de los pacientes presentaron diferentes grados de severidad con un promedio de  $116,1 \pm 22,5417 \times 10^9/L$  plaquetas. Se encontró una asociación significativa entre trombocitopenia con la positividad a los anticuerpos IgM anti-dengue, no observándose relación ni con los anticuerpos IgG, ni con el antígeno NS1 del virus. Se demuestra una alta frecuencia del dengue en un grupo poblacional del Cantón Flavio Alfaro acorde con la provincia de Manabí con mayor casuística en el Ecuador y dada la relación entre las variables, se sugiere el uso del conteo plaquetario de rutina como una medida de riesgo y de valor pronóstico en la evolución de formas severas del dengue.

**Palabras clave:** Biometría hemática; conteo plaquetario; dengue; Ecuador; serología.

## Abstract

Dengue is the most common arbovirus in the world. In dengue, platelets contribute to the pathogenesis, but the activation and consumption mechanisms are not yet understood. The objective of this research was to determine dengue virus infection and its relationship with thrombocytopenia in patients from the RECK-LAB clinical laboratory, Flavio Alfaro. An observational, analytical, cross-sectional and retrospective study was carried out. The sample consisted of 295 adults with a serological diagnosis of infection, selected according to inclusion/exclusion criteria. The most relevant results were that the frequency of dengue infection, according to the sex and age of the patients, was 59.7% in the female population; a homogeneous frequency of infection was observed from 18 to 57 years of age, being higher than in the groups

over 58 years of age. Regarding thrombocytopenia, it was found that 45.8% of the patients presented different degrees of severity with an average of  $116.1 \pm 22.5417 \times 10^9/L$  platelets. A significant association was found between thrombocytopenia and positivity to anti-dengue IgM antibodies, not observing a relationship with IgG antibodies, or with the NS1 antigen of the virus. A high frequency of dengue is demonstrated in a population group of the Flavio Alfaro Canton, in accordance with the province of Manabí with the highest number of cases in Ecuador and given the relationship between the variables, the use of routine platelet count is suggested as a measure of risk and prognostic value in the evolution of severe forms of dengue.

**Keywords:** Hematic biometry; platelet count; dengue; Ecuador; serology.

## Resumo

A dengue é o arbovírus mais comum no mundo. Na dengue, as plaquetas contribuem para a patogênese, mas os mecanismos de ativação e consumo ainda não estão esclarecidos. O objetivo desta investigação foi determinar a infecção pelo vírus da dengue e a sua relação com a trombocitopenia em doentes do laboratório clínico RECK-LAB, Flavio Alfaro. Foi realizado um estudo observacional analítico, transversal e retrospectivo. A amostra foi de 295 adultos com diagnóstico serológico de infecção, seleccionados sob critérios de inclusão/exclusão. Os resultados mais relevantes identificaram que a frequência da infecção por dengue, segundo o sexo e a idade dos doentes, foi de 59,7% na população feminina; Observou-se uma frequência homogênea de infecção dos 18 aos 57 anos, sendo superior à dos grupos acima dos 58 anos. Relativamente à trombocitopenia, verificou-se que 45,8% dos doentes apresentavam diferentes graus de gravidade com uma média de  $116,1 \pm 22,5417 \times 10^9/L$  plaquetas. Foi encontrada uma associação significativa entre a trombocitopenia e a positividade para anticorpos IgM anti-dengue, não se tendo observado qualquer relação nem com os anticorpos IgG nem com o antígeno NS1 do vírus. Demonstra-se uma elevada frequência de dengue num grupo populacional do Cantão Flavio Alfaro de acordo com a província de Manabí com maior número de casos no Equador e dada a relação entre as variáveis, sugere-se a utilização da contagem rotineira de plaquetas como um risco medida e de valor prognóstico na evolução das formas graves de dengue.

**Palavras-chave:** Biometria hemática; contagem de plaquetas; dengue; Equador; sorologia.

## Introducción

El dengue (DEN) es una enfermedad viral transmitida por artrópodos (arbovirosis) por mosquitos *Aedes* y causada por 1 de los 4 serotipos del virus del dengue (dengue virus-1 [DENV-1] a DENV-4). Todos los serotipos son capaces de causar enfermedad con un amplio espectro de manifestaciones clínicas, desde una fiebre indiferenciada en una forma clínica leve conocida como fiebre dengue o dengue sin signos de alarma (DSSA) hasta la forma clínica moderadamente grave o dengue con signos de alarma (DCSA) y una forma grave y potencialmente mortal o dengue grave (DG). El DEN es un problema de salud grave en todo el mundo debido a su rápida diseminación, alta incidencia y gravedad. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la mitad de la población mundial está en riesgo de contraer DEN y se estima que cada año se producen entre 100 y 400 millones de infecciones (1).

El DEN es endémico en África, América, el Mediterráneo oriental, Asia, Australia y el Pacífico occidental, aunque las regiones de América, Asia sudoriental y el Pacífico occidental son las más afectadas y Asia representa casi el 70% de la carga mundial de DEN. Los niños se ven significativamente afectados por las epidemias de DEN en América del Sur y el Caribe. En las últimas dos décadas, la casuística y la mortalidad por DEN notificadas a la OMS se ha duplicado en más de ocho y cuatro veces, respectivamente. Los registros se incrementaron de 505.430 en el año 2000 a más de 2,4 millones en el 2010 y a más de 5,2 millones en el 2019, con los fallecimientos notificados también en aumento de 960 en el 2000 a 4.032 en el 2015 y han dejado de afectar solo a niños para afectar a todos los grupos etarios (2).

Ecuador es una zona endémica para el DENV, por lo que los riesgos de contagio son altos sobre todo en las áreas tropicales principalmente en invierno donde se eleva la incidencia de casos. El número de casos de DEN en el año 2022 fue superior a los reportados en 2021 (14.499) y ligeramente superior a los reportados en 2020 (11.799) durante el mismo período. En este país como en muchos de Latinoamérica el DEN no tiene prioridad oficial en cuanto a prevención y control. Las actividades de control del vector no cuentan con sostenibilidad, lo cual se relaciona con la carencia de programas sustentables, falta de integración intra e intersectorial y de participación comunitaria, lo que agrava la situación epidemiológica en estos países (3).

Mahmood y col. (4) investigaron predictores de mortalidad en pacientes con DEN encontrando que la edad mayor de 45 años, la leucocitosis y la lesión renal aguda medida por creatinina ( $> 1,5$  mg/dL) aumentaron la probabilidad de mortalidad por DEN en este estudio, mientras que el sexo,

la duración de la estancia hospitalaria, la trombocitopenia y la lesión hepática aguda no afectaron las probabilidades de mortalidad. No obstante, la trombocitopenia es común y puede ocurrir con fuga vascular, shock y deterioro orgánico. Los mecanismos teóricos para la trombocitopenia incluyen también la activación plaquetaria, que provoca la adhesión a la pared vascular formando trombos y eliminándolos de la circulación, efectos citotóxicos inmunológicos a través de la opsonización de plaquetas e infección directa de plaquetas y megacariocitos por el virus (5).

Estudios recientes han demostrado que las plaquetas infectadas con DENV pueden replicar el genoma viral y traducirlo en proteínas, incluida la proteína no estructural 1 (NS1) de DENV. La NS1 es una glicoproteína que comprende el complejo de replicación de DENV junto con otras proteínas NS (6). Dado que la trombocitopenia es uno de los criterios utilizados por la OMS como un posible indicador de gravedad clínica, las definiciones generalmente describen trombocitopenia o disminución rápida en el recuento de plaquetas o un recuento de plaquetas inferior a 150.000 por microlitro de sangre (7). Las vías de coagulación y fibrinolíticas se activan durante una infección aguda por DENV y la disfunción endotelial se observa en el DG. Los mecanismos por los cuales ocurren los cambios fisiopatológicos en el DEN aún no se comprenden y pareciera producto de la interacción de varios factores (8).

Estos factores incluyen la virulencia de la cepa circulante, la presencia de un vector eficiente o de alta densidad, la amplia circulación del virus y las características del huésped como factores genéticos, etnia, presencia de enfermedades crónicas e infecciones posteriores por DENV (9). La trombocitopenia puede ser inducida por varios mecanismos durante el DEN: infección directa del virus a los megacariocitos y a las plaquetas, mielo-depresión de tipo humoral y depuración de plaquetas condicionada por anticuerpos contra las glicoproteínas de la membrana celular; sin embargo, existen muchos factores por investigar en este tema, de allí que la base principal de este estudio es determinar la infección por virus del dengue y su relación con la trombocitopenia en pacientes del laboratorio clínico RECK-LAB, del Cantón Flavio Alfaro atendidos en el año 2023.

### **Situación problemática**

Las vías patogénicas implicadas en la trombocitopenia y el sangrado durante el DEN no se entienden completamente y se han sugerido varias hipótesis: DENV podría afectar directa o indirectamente a las células progenitoras de la médula ósea (MO) inhibiendo su función. De hecho, hay evidencia de que DENV puede inducir hipoplasia de MO durante la fase aguda. Asimismo, la

infección por DENV induce el consumo de plaquetas debido a la coagulación intravascular diseminada (CID), la destrucción de plaquetas debido al aumento de la apoptosis, la lisis por el sistema del complemento y por la participación de anticuerpos antiplaquetarios (10). De allí la relevancia de investigar las plaquetas en la fisiología y su implicación en la patogénesis del DEN. En los pacientes con DEN las presentaciones clínicas pueden imitar otras infecciones. La serología para el diagnóstico definitivo es costosa e inaccesible en muchos países, por lo que la identificación de las características clínicas y los parámetros hematológicos que distingan la infección por DENV de otras causas, cobra interés en la actualidad. Además, el desarrollo de vacunas ha sido un gran desafío debido a la complicación de sus cuatro serotipos antigénicamente distintos que pueden causar infección y el tratamiento específico para la infección por DENV aún no está disponible. Por lo tanto, la investigación es crucial y el diagnóstico preciso es necesario para proporcionar una estrategia oportuna a las personas con DEN (11).

Aunque los mecanismos precisos que conducen al DEN grave no están completamente dilucidados, las citocinas y quimiocinas proinflamatorias contribuyen a la inestabilidad hemodinámica y a la gravedad de la enfermedad. Las plaquetas de pacientes con DEN presentan características de activación aumentada, que son mayores en el DEN grave. Las plaquetas son células sanguíneas conocidas clásicamente como efectoras de la hemostasia, a las que se reconoce cada vez más que tienen importantes actividades inmunitarias e inflamatorias. La evidencia emergente identifica importantes contribuciones de las plaquetas a la amplificación inflamatoria en el DEN; sin embargo, el fenotipo y las funciones efectoras de las plaquetas en la patogénesis del DEN no se comprenden por completo (12).

Al comparar el contenido proteico de las plaquetas en muestras clínicas de pacientes con DEN versus plaquetas de donantes sanos, se reveló un conjunto de 252 proteínas diferencialmente abundantes. Los análisis asociaron estas proteínas con la activación plaquetaria y la respuesta inflamatoria, y con eventos que no se habían atribuido previamente a las plaquetas durante la infección por DENV, incluido el procesamiento y la presentación de antígenos, la actividad del proteasoma y la expresión de histonas. A partir de estos resultados, se realizaron ensayos utilizando muestras de una cohorte más grande de pacientes y demostraron evidencia de activación plaquetaria y la secreción de quimiocinas almacenadas en gránulos por las plaquetas. Además, la infección por DENV desencadenó que la histona H2A liberada durante la infección se una a las plaquetas y aumenta su activación (13).

Asimismo, un estudio previo ha demostrado que las plaquetas activadas de pacientes infectados con DEN o las plaquetas infectadas con DENV *in vitro* ensamblan dominios que favorecen el inflammasoma que induce una mayor secreción de interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) proinflamatoria. Esta síntesis y secreción de IL-1 $\beta$  por las plaquetas se correlacionó con una mayor permeabilidad vascular, y las plaquetas infectadas con DENV aumentaron la permeabilidad endotelial (14). Además, se ha demostrado que las plaquetas de pacientes con DEN o plaquetas infectadas con DENV *in vitro* también expresan P-selectina y liberan quimiocinas almacenadas en gránulos, lo que amplifica la inflamación en el DEN; sin embargo, estas vías inflamatorias en las plaquetas y su consumo durante la infección no están claras (15).

A pesar de los resultados controversiales y de las numerosas incógnitas en la trombocitopenia asociada a la infección por DENV, las evidencias demuestran que la trombocitopenia en el DEN puede surgir, además, por aumento de la destrucción periférica de plaquetas y el aclaramiento de la sangre periférica. Un volumen plaquetario medio (VPM) alto indica una mayor destrucción plaquetaria en los pacientes. El VPM suele ser alto o normal en pacientes con DEN; por lo tanto, la destrucción plaquetaria excesiva podría ser la principal razón de la trombocitopenia en pacientes con DEN y es necesaria la identificación temprana de signos de alarma en pacientes con DEN para el manejo adecuado de la enfermedad (16). En Ecuador durante el año 2022 se notificaron 16.017 casos confirmados de DEN, de los cuales 14.133 (88,23%) fueron dengue sin signos de alarma (DSSA), 1.775 casos (11,08%) dengue con signos de alarma (DCSA) y 109 casos (0,68%) de dengue grave (DG), con serotipos circulantes DENV-1 y DENV-2. Para el año 2023, en el SE 50 se notificaron 26.847 casos, mayormente asociados a DSSA. Los cuatro serotipos del virus han circulado en Ecuador, sin embargo, a partir del 2013, han predominado los serotipos DENV-1, 2 y 4. La circulación simultánea de diferentes serotipos en una región podría ser un factor de asociación entre la infección por dengue y la severidad de la enfermedad (3).

Informes previos han demostrado que, durante la fase temprana del DEN, la MO muestra hipocelularidad y atenuación de la maduración de los megacariocitos, sin embargo, los mecanismos precisos que subyacen a esta supresión inducida por DENV durante la fase aguda siguen sin estar claros. La trombocitopenia también puede deberse al consumo de plaquetas durante el proceso de coagulopatía en curso, a la activación del sistema del complemento o al aumento del secuestro periférico (10); no obstante, son necesarios estudios que evalúen la trombocitopenia como indicador predictivo a la evolución grave de la enfermedad. Hasta ahora, es poco lo que se ha

reportado en Ecuador en relación a estudios de hematológicos y específicamente de los niveles de trombocitopenia en la infección por los DENV.

La generación de este conocimiento redundaría de forma relevante en la salud pública de Ecuador, dado que no solo se dará a conocer la prevalencia del DEN en un grupo de pacientes del Cantón Flavio Alfaro de la provincia de Manabí, que es una de las más afectadas por el DEN, sino que se analizará la presencia de trombocitopenia que pudiera identificar tempranamente la severidad de la infección por DENV. Esta infección viral por la inmunopatogénesis tan complicada y las condiciones epidemiológicas complejas que involucra, representa un reto de salud importante, en especial en ambientes de alta endemicidad y con cocirculación de otros arbovirus, lo que desencadenaría una mayor probabilidad de padecer DG o DCSA, de allí la importancia de la presente propuesta de investigación.

Es de destacar que la presente investigación permitirá profundizar en el conocimiento de la evolución de las infecciones causadas por DENV y los cambios en los parámetros plaquetarios cuyos mecanismos están descritos, pero de acuerdo a condiciones propias de las cepas y de las poblaciones, los resultados hasta ahora son contradictorios, evidenciándose la necesidad de profundizar al respecto, información de interés no solo nacional sino mundial, dado que se necesitan con urgencia mejoras en el diagnóstico temprano y marcadores de severidad de la infección, principalmente en entornos de recursos limitados donde la distinción entre el DEN y otras enfermedades febriles son estrictamente necesarios y el correcto abordaje del DG con o sin hemorragia sería de mucho interés, dado los altos costos en el uso de hospitalizaciones y uso de unidades de cuidados críticos, que reportan algunos autores (17). Esta investigación además del interés científico, también aportara al cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) (18) y al Plan de Creación de Oportunidades 2021-2025 del Ecuador (19).

Es por ello que la presente investigación plantea en un entorno endémico como el Cantón Flavio Alfaro de la provincia de Manabí en Ecuador, analizar la infección por virus dengue y su relación con la trombocitopenia en pacientes atendidos en un laboratorio clínico privado durante el año 2023, lo que permitiría no solo conocer la prevalencia del DEN en ese grupo de pacientes sino la asociación con los niveles de trombocitopenia en la búsqueda de marcadores de severidad.

## Antecedentes

Chaloemwong y col. (20) en el 2018 en la investigación realizada en Tailandia titulada “Características clínicas y parámetros hematológicos útiles para el diagnóstico de la infección por DENV en pacientes con enfermedad febril aguda (EFA)”, identificaron las características clínicas hematológicas que distinguen el DEN de otras causas, bajo la metodología de estudio retrospectivo. Se incluyeron 154 pacientes que Los resultados evidenciaron que el grupo con DEN tuvo menor recuento de plaquetas del día 3 al día 5 y la relación porcentual de neutrófilos a linfocitos del grupo con DEN fue  $> 1$  en los primeros 5 días. Se concluye que existen características clínicas y parámetros de hemograma para diferenciar al DEN de otras EFA.

Hottz, Bozza y Bozza (15) en la publicación del año 2018 titulada: “Plaquetas en la respuesta inmunitaria a los virus y la inmunopatología de las infecciones virales por DENV, influenza y virus de inmunodeficiencia humana 1”, con una metodología de estudio de revisión, evidenciaron como resultados que las plaquetas son células efectoras esenciales en la hemostasia. Además de su papel en la coagulación, cuando se activan tienen funciones trombo inflamatorias que vinculan la coagulación con las respuestas inmunitarias. Concluyen que, los principales mecanismos de interacción de las plaquetas con los virus y su capacidad para sostener la infección y replicación viral, sus receptores especializados, son mediadores en las respuestas protectoras y fisiopatológicas.

Chao y col. (21) en el año 2019 publicaron la investigación realizada en Taiwán titulada: “Activación de las plaquetas a través del receptor tipo Toll 4 (TLR4) por la proteína NS1 DENV, lo que provoca trombocitopenia y hemorragia”. Fue un estudio de metodología experimental cuyos resultados demuestran que el DENV puede inducir la expresión de proteínas en las plaquetas. Además, la activación de plaquetas por DENV NS1 promovió su agregación y mejoró su adhesión a las células endoteliales y la fagocitosis por macrófagos. Se concluye que la trombocitopenia y la hemorragia inducidas por DENV fueron atenuadas en ratones sin TLR4, sugiriendo que esta unión en las plaquetas puede desencadenar su activación, contribuyendo a la trombocitopenia y la hemorragia durante el DEN.

Quirino-Teixeira y col. (12) en el año 2020 publicaron el estudio realizado en Brasil, titulado: “Señalización inflamatoria en las plaquetas infectadas por el DENV, que requiere la traducción y secreción de DENV NS-1”, que es secretada por células infectadas con funciones reconocidas en la patogénesis del DEN, pero sigue sin conocerse si NS1 contribuye al fenotipo inflamatorio. Este

estudio de metodología experimental mostró como resultados que la NS1 del DENV activó las plaquetas hacia un fenotipo inflamatorio que reprodujo parcialmente la infección por DENV. Concluyen que estos datos revelan mecanismos nuevos para la activación plaquetaria en el DEN, que involucran la traducción del genoma de DENV y la activación plaquetaria inducida por NS1 a través del receptor tipo toll TLR4.

Pathak y col. (22) en el estudio publicado en el año 2021 realizado en la India titulado: “Carga viral elevada correlacionada positivamente con la trombocitopenia y el hematocrito elevado en pacientes pediátricos infectados con DENV”, analizaron 102 casos pediátricos confirmados de DEN para diversos parámetros virales y del huésped bajo una metodología descriptiva y transversal. El análisis cuantitativo de NS1, IgM e IgG se realizó por ELISA. La serotipificación del virus y la carga viral (CV) se realizó mediante RT-PCR multiplex. Los resultados mostraron que la CV se correlacionó con el hematocrito y de manera negativa con las plaquetas. Concluyen que la CV podría tener un valor predictivo alto para el DEN, como la trombocitopenia y el hematocrito elevado, cuando la CV supera el umbral (>106 copias/mL).

Quirino-Teixeira y col. (23) en el año 2022 publicaron el estudio realizado en Brasil titulado: “Plaquetas en la infección por virus dengue”. Con una metodología de revisión, destacan como resultados los mecanismos que se han relacionado con la trombocitopenia y también a una respuesta inmunitaria e inflamatoria mediada por plaquetas. Se analiza la infección de progenitores hematopoyéticos y células del estroma como mecanismos involucrados en la supresión de la MO. En cuanto al consumo periférico de plaquetas, se considera la infección directa, la adhesión a leucocitos, endotelio vascular y la depuración plaquetaria mediada por anticuerpos antiplaquetarios. También la participación a través de la traducción y secreción de factores virales y del huésped. Concluyen que mecanismos centrales y periféricos contribuyen a la trombocitopenia asociada a DENV.

Losada, DeLaura y Narváz (24) en su estudio publicado en el año 2022, realizado en Colombia y titulado: “DENV y las plaquetas: de la biología a la clínica”. La metodología fue de un estudio de revisión narrativa y muestran como resultados que la infección grave por DENV se presenta con fuga capilar, hemorragia y compromiso orgánico, que podría ser fatal. El conteo absoluto de plaquetas es una cuantificación de laboratorio utilizado para dar seguimiento de la evolución clínica del DEN, dado que la infección generalmente conlleva a trombocitopenia. Se han postulado diversas hipótesis para explicar este rápido descenso. Concluyen que el DENV infecta y activa las

plaquetas, induciendo su eliminación por fagocitosis. Sin embargo, esta infección también puede afectar a los precursores de la médula ósea regulando la megacariopoyesis.

Asha y col. (7) en el estudio publicado en el año 2023 en Brasil titulado: “Comparación de los índices plaquetarios (IP) en pacientes con DEN basado en transfusión de plaquetas”, con una metodología observacional y prospectiva, compararon los IP en 250 pacientes. Se midieron parámetros plaquetarios (recuento plaquetario, volumen plaquetario medio [VPM], amplitud de distribución plaquetaria [APD], proporción plaquetaria de células grandes [PLCR], plaquetocrito [PCT] y fracción de plaquetas inmaduras [IPF]) y se realizó un seguimiento cada 24h. Los resultados mostraron APD y VPM normales, recuento plaquetario y PCT bajos y PLCR e IPF altos en pacientes con DEN. Se concluye que los IP actúan como una herramienta predictiva en el diagnóstico y predicción en la fiebre del DEN.

Bernal y col. (25) en la investigación publicada en el 2023 realizado en la zona metropolitana de Asunción, Paraguay, titulada: Biomarcadores séricos y anticuerpos anti-flavivirus como indicadores de DG”, utilizaron una metodología de estudio descriptivo y prospectivo, donde seleccionaron 145 casos confirmados de DEN (mediana de edad, 42; rango <1-91 años). Se incluyeron los tipos 1, 2 y 4 del DENV y la gravedad se categorizó según la OMS. Realizaron pruebas serológicas, químicas y hemogramas completos. Los resultados evidenciaron que la edad, el sexo y las comorbilidades se asociaron con DG vs. DCSA/DSSA. El recuento de plaquetas y de linfocitos se asociaron con la gravedad del DEN. Se concluye que múltiples factores se asocian con DG en esta población y aportan en la detección temprana del DEN potencialmente grave con nuevos pronósticos de fase aguda en casos de DEN.

Abbas y Kouser (26) en el estudio publicado en el 2023 Titulado: “Evaluación del espectro clínico de la trombocitopenia y su asociación con diferentes estados de enfermedad informados en el Laboratorio de Investigación y Referencia de Diagnóstico de Paquistán”, utilizaron una metodología de estudio transversal y retrospectivo, incluyeron 1.249 pacientes con una media de edad de  $38,5 \pm 19,7$  años, 6,3% tenían <12 años, 47,4% entre 12 y 40 años y 46,3% >40 años. Los resultados evidenciaron que la mayoría de los pacientes eran varones (63,5%) y 48,4% tenían trombocitopenia grado 1. En las féminas, se encontró trombocitopenia grado 1 en el 53,9% y de grado 2 en 30,7% en comparación con 45,1% y 28% en los varones, respectivamente. Concluyen que la trombocitopenia estuvo asociada con el género.

Logia y col. (27) en el estudio publicado en el año 2023 realizado en la India, titulado: “Predictores de sangrado clínicamente significativo (HCS) en pacientes con DEN trombocitopénico, ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI)”. Con una metodología de investigación retrospectiva, incluyeron 9.817 pacientes con DEN, de los cuales 120 con trombocitopenia fueron admitidos en UCI y de ellos 31,6% tenían HCS. Los resultados demostraron que la fiebre, la puntuación de la evaluación secuencial de la función orgánica (SOFA) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) elevado se asociaron significativamente con HCS. El desempeño del puntaje demostró sensibilidad del 81% y especificidad de 77%. Concluyen que la fiebre mayor a 38,3 °C, el TTPa elevado y un aumento en la puntuación SOFA fueron factores de riesgo de HCS.

Rasizadeh y col. (28) realizaron el estudio publicado en el año 2024 en Irán titulado: “Virus y trombocitopenia”, bajo una metodología de revisión sistemática, profundizan en este nexo, analizando los mecanismos fisiopatológicos y destacan el papel de las plaquetas. Los resultados evidencian que la trombocitopenia, es una manifestación clínica que puede surgir de varias causas subyacentes. En relación con virus específicos arroja luz sobre los diversos mecanismos a través de los cuales el virus de la hepatitis C (VHC), del sarampión, Parvovirus B19 y otros como el DENV, contribuyen al agotamiento de plaquetas. Concluyen que a medida que se generan conocimientos sobre estas interacciones, se acerca la elucidación de posibles vías terapéuticas y estrategias preventivas para el manejo de la trombocitopenia en el contexto de las infecciones virales.

Sarkar y col. (29) en el año 2024 publicaron el estudio realizado en el este de la India titulado: “Un estudio observacional para determinar la asociación entre la CV, NS1, anticuerpos IgG y otros parámetros de laboratorio con el pronóstico de los pacientes con DEN”. La metodología incluyó 316 muestras de pacientes con fiebre, 32,5% fueron reactivas a NS1. Se realizó seguimiento de los pacientes con DEN durante 15 días y se según la clínica. En cuanto a los resultados según la gravedad, 63,1% tenían DSSA, 30,09% DCSA y 6,79% DG. El 71% de los casos de DCSA y el 57% de los casos de DG, lo que se correlacionó positivamente con las enzimas hepáticas y la CV y negativamente con las plaquetas. Concluyen que la evolución de la infección por DENV depende de asociaciones entre la trombocitopenia, las enzimas hepáticas y la CV inicial.

Ramalingam y col. (30) realizaron el estudio publicado en el año 2024 en la India titulado: “Asociación entre leucopenia, transaminitis, nivel de NS1 y trombocitopenia en pacientes adultos con DEN en un hospital de atención terciaria”, bajo una metodología de investigación retrospectiva

y transversal incluyeron 102 pacientes con enfermedad febril aguda (EFA) con DEN (confirmada por positividad en NS1, IgM o ambos). Se aplicó análisis de regresión para encontrar predictores de trombocitopenia entre aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT), nivel de NS1 y leucopenia. Los resultados demostraron que tanto AST como ALT se correlacionaron inversamente con la trombocitopenia; mientras NS1 y leucopenia no se asociaron a ésta. Se concluye que las concentraciones séricas de AST y ALT se asocian con la trombocitopenia en el DEN.

Thapa y col. (31) en la investigación publicada en el año 2024 realizada en Nepal, titulada: “Perfil clínico-patológico de la infección por DENV en un centro de atención terciaria”, reclutaron 84 casos de DEN confirmados utilizando una metodología de estudio transversal. Los resultados clínico-patológicos se obtuvieron de los registros de los pacientes, 76% tenían DSSA, 21,4% DCSA y 2,4% DG. Alrededor del 97,6% presentaron fiebre. Durante la enfermedad, se identificó anemia (38,1%), trombocitopenia (65,5%), hemoconcentración (6%) y leucopenia (82,1%). AST y ALT en 67,7% y 53,2% respectivamente. La gravedad del DEN se asoció con trombocitopenia, leucopenia y ALT elevada. Concluyen que el conocimiento de estos parámetros clínicos y de laboratorio es importante para el diagnóstico rápido, la estimación de la gravedad y el tratamiento general de la infección por DENV.

## **Fundamentación Teórica**

### **Infección por virus del Dengue**

Los virus del dengue (DENV) son los arbovirus humanos más importantes en todo el mundo y son transmitidos por mosquitos del género *Aedes* en forma de cuatro serotipos distintos (DENV-1 a 4). Los DENV son miembros de la familia *Flaviviridae*, virus de ARN monocatenario con aproximadamente 11.000 nucleótidos y un marco de lectura abierto de una fase que codifica una sola poliproteína, que posteriormente se escinde en tres proteínas estructurales (C, prM/M y E) y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2b, NS3, NS4A, NS4B y NS5). Las proteínas estructurales incluyen una proteína de la cápside (C) que se une al ARN viral, una proteína de membrana (M) que se encuentra en la partícula viral madura y una proteína de envoltura (E) que media la unión viral, la fusión de la membrana y el ensamblaje del virión (32).

La proteína E es la principal proteína estructural expuesta en la superficie de la partícula viral que desencadena respuestas inmunitarias protectoras en el huésped al provocar la producción de anticuerpos neutralizantes. Está compuesta por 3 dominios; el dominio I contiene la región central, el dominio II está involucrado en la fusión de membrana mediada por el virus y el dominio III interactúa con los receptores celulares y contiene epítomos reconocidos por anticuerpos neutralizantes. Las proteínas no estructurales están involucradas en la traducción, transcripción y replicación viral (15).

La proteína NS1 es de 46 kDa de tamaño y está relacionada a la replicación del ARN viral. Específicamente la NS1 se expresa en la superficie de las células infectadas sin formar parte del virión. Las concentraciones en suero de NS1 secretada (sNS1) se correlacionan positivamente con la carga viral y son una alternativa diagnóstica de la infección por DENV. La proteína NS1 desencadena respuestas inmunitarias en el huésped dado que se expresa en la superficie de las células infectadas y se ha demostrado que, además, NS1 muestra actividad de fijación del complemento soluble y se ha inferido que está implicada en la patogénesis de la infección por DENV (14).

NS2A es una proteína de 22 kDa involucrada en el empaquetamiento y replicación del ARN, y puede estar involucrada en el antagonismo del interferón tipo I. NS2B es una proteína asociada a la membrana de 14 kDa y sirve como cofactor para que NS3 forme un complejo de proteasa viral. NS3 es una proteína multifuncional con actividades de serina proteasa helicasa/nucleósido trifosfato-NTPasa, y es necesaria para desenrollar la forma replicativa de doble cadena del ARN. También está involucrada en el procesamiento de la poliproteína viral y la replicación del ARN. NS4A y NS4B son pequeñas proteínas hidrófobas que funcionan como inhibidores de la señalización de interferón (IFN). Finalmente, NS5 es una gran proteína multifuncional de 103 kDa que muestra actividad de polimerasa dependiente de ARN y fue identificada recientemente como un potencial antagonista de la producción de IFN tipo I (33).

El DENV se inocula en el tejido cutáneo y se introduce en el torrente sanguíneo, durante la alimentación del mosquito hembra hematófaga infectada. Después de entrar en la piel, el DENV infecta a varios tipos celulares inmunitarios, como las células dendríticas y de Langerhans. Estas células infectadas migran luego a los ganglios linfáticos, donde entran en contacto con nuevas células e inician nuevas infecciones, lo que provoca viremia. El período de incubación intrínseco del DENV (el tiempo transcurrido entre la picadura del mosquito y la aparición de los síntomas)

suele ser de 3 a 10 días. Estos hallazgos corresponden a la primera fase clínica de la infección por DEN, conocida como fase febril. Después de esta fase, el paciente evoluciona a una fase crítica, caracterizada por el aumento de la permeabilidad vascular, antes de llegar a la fase de convalecencia (1).

El DEN es una enfermedad autolimitada, con un espectro clínico amplio que incluye desde manifestaciones leves a graves. Cerca del 75%–80% de las personas infectadas no manifiestan síntomas, y aproximadamente el 5% puede desarrollar una enfermedad grave. Generalmente el DEN evoluciona en tres fases: febril, crítica y de recuperación, aunque no siempre estas fases están completamente definidas en la práctica clínica. Después del período de incubación de 3 a 10 días, durante la fase febril, los pacientes sienten un inicio agudo de fiebre, mialgias, dolor de cabeza o cefalea, artralgia, dolor retro ocular y anorexia. También pueden experimentar náuseas, vómitos, dolor de garganta y faringitis. En los niños, el dolor abdominal y la diarrea son más comunes, aunque estos síntomas también pueden aparecer en adolescentes y adultos. Durante esta primera fase, los niveles de leucocitos y plaquetas pueden descender y pueden aparecer petequias (pequeñas manchas sangrantes en la piel) y equimosis (grandes manchas sangrantes subcutáneas) (13).

También es frecuente el eritema morbiliforme generalizado (blanqueamiento con la presión). Después de 2 a 5 días, los pacientes experimentan defervescencia, caracterizada por una caída repentina de la fiebre, y aquellos sin problemas de permeabilidad vascular comenzarán a recuperarse. Sin embargo, la fase crítica comienza para aquellos que experimentan un aumento de la permeabilidad vascular, y su estado clínico puede deteriorarse rápidamente (15).

Todos los serotipos del DENV son capaces de causar enfermedad con un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que van desde una fiebre indiferenciada en una forma clínica leve conocida clásicamente como DSSA hasta la forma clínica grave y potencialmente mortal DG, pasando por DCSA. Los síntomas iniciales son comunes a todos los pacientes, pero las manifestaciones clínicas de las formas graves evolucionan rápidamente con síntomas que incluyen fiebre alta, agrandamiento del hígado, insuficiencia circulatoria (hipotensión y shock), cavidad edematosa (pleural, abdominal y cardíaca) y fenómenos de sangrado interno. Las formas graves se caracterizan principalmente por fuga de plasma y trombocitopenia con o sin hemorragia. La OMS clasificó las presentaciones clínicas de DEN, pero ha sido difícil aplicar en los países de América Central y América Latina (2).

La clasificación se basa en los criterios clínicos actuales de gravedad de los casos de dengue, entendiendo la enfermedad como un evento sistémico y dinámico, y facilitando el abordaje de los casos y el manejo clínico posterior de los pacientes. Según este criterio, la nueva clasificación aborda tres conjuntos de signos y síntomas clínicos: (1) dengue sin signos de alarma (DSSA), (2) dengue con signos de alarma (DCSA) y (3) dengue grave (DG). Según la nueva clasificación, los pacientes típicamente desarrollaron una fiebre alta repentina. Esta fase febril aguda generalmente dura de 2 a 7 días y a menudo estuvo acompañada de enrojecimiento facial, eritema de la piel, dolor corporal generalizado, mialgia, artralgia y dolor de cabeza. La anorexia, las náuseas y los vómitos también fueron comunes (34).

Estas características clínicas se caracterizan como casos de DEN no grave. El monitoreo de los signos de alarma y otros parámetros clínicos es crucial para reconocer la progresión a la fase crítica, y puede ayudar a distinguir los casos de DEN no grave y grave. Los signos de alarma se evalúan mediante los siguientes parámetros clínicos: dolor o sensibilidad abdominal, vómitos persistentes, acumulación clínica de líquido, sangrado de las mucosas, letargo, inquietud y agrandamiento del hígado  $>2$  cm asociado con parámetros de laboratorio como aumento del hematocrito (HCT) concurrente con disminución rápida del recuento de plaquetas. Pueden estar presentes manifestaciones hemorrágicas leves como petequias y sangrado de las membranas mucosas (p. ej., nariz y encías) (31).

Los pacientes requieren tratamiento de emergencia y derivación urgente en la fase crítica de la enfermedad, es decir, cuando tienen DG, caracterizado por fuga de plasma grave que conduce a shock y/o acumulación de líquido con dificultad respiratoria, hemorragias graves demostradas por sangrado vaginal masivo (en mujeres en edad fértil) y sangrado gastrointestinal y/o deterioro orgánico grave (daño hepático, deterioro renal, miocardiopatía, encefalopatía o encefalitis). El DENV es un virus neurotrópico que puede infectar directamente las células de sostén del sistema nervioso central y causar daño neuronal. Además, algunos síndromes neurológicos están relacionados con la naturaleza inflamatoria de la enfermedad. La ADE puede provocar pérdida de plasma, hinchazón edematosa y liberación desregulada de citocinas, lo que produce daño neuronal de mediación inmunológica. Las diversas manifestaciones neurológicas relacionadas con la infección por DENV se pueden clasificar en encefalopatía, encefalitis, síndromes de mediación inmunológica, disfunción muscular, accidente cerebrovascular asociado al dengue y trastornos neuro-oftálmicos (35).

Los mecanismos por los cuales ocurren los cambios fisiopatológicos en la fiebre del DEN aún no se comprenden completamente. La interacción de varios factores parece ser responsable del desarrollo de la enfermedad grave. Estos factores incluyen los siguientes: la virulencia de la cepa circulante, la presencia de un vector eficiente o de alta densidad, la amplia circulación del virus y las características del huésped como factores genéticos, etnia, presencia de enfermedades crónicas e infecciones posteriores por DENV (2).

La infección por uno de los cuatro serotipos de DENV genera inmunidad protectora y duradera contra la reinfección por el mismo serotipo, sin embargo, cuando la reinfección es por un serotipo diferente, la protección heterotípica es temporal y no completa, lo que induce la ocurrencia de infecciones subsiguientes. Las investigaciones epidemiológicas han demostrado que la mayoría de los individuos que evolucionan a FHD/DCSA grave habían sido infectados previamente con un serotipo diferente del DENV. Esto sugiere que una infección previa con DENV es un factor de riesgo para el desarrollo de la forma grave de la enfermedad. El mecanismo de mejora dependiente de anticuerpos (ADE) fue propuesto por Halstead en la década de 1970 (34).

### **Epidemiología del dengue en Latinoamérica**

Los DENV causan una infección grave en los seres humanos, que da lugar a morbilidad y mortalidad en la mayoría de las zonas tropicales y subtropicales a nivel global. Se estima que actualmente hay entre 50 y 100 millones de casos de dengue cada año en todo el mundo, incluidos más de 500.000 casos notificados de DCSA y DG. Las personas infectadas por DENV pueden manifestarse como infecciones asintomáticas o progresar a un síndrome de DEN leve o grave. Aunque la infección es autolimitada, los pacientes con DG presentan manifestaciones potencialmente mortales que incluyen fuga vascular grave, hemorragia, insuficiencia orgánica y shock, donde la trombocitopenia es un sello distintivo del DEN, y su prevalencia y gravedad son mayores en los casos graves (20).

En las Américas, en el 2022, después de solo 27 Semanas Epidemiológicas (SE), el número de casos aumentó a un nivel asombroso de 1.894.668, lo que representa un millón adicional al número registrado en el mismo período del 2021. Brasil representó el mayor número de casos en la región, con 1.716.898 casos reportados hasta el momento. Los DENV-1, DENV-2 y DENV-4 han asolado Brasil dejando atrás 1.068 casos de DG y 669 muertes con una tasa de letalidad de 0,039 (17). En Perú se registraron 55.000 casos en el 2022, DENV -1 y DENV-2 son los serotipos circulantes en

el país que reportaron 65 casos fatales. Si bien varios países endémicos para DEN experimentaron una disminución en el número de casos en el 2020, presumiblemente debido a las medidas de contención impuestas para combatir la pandemia de COVID-19, Perú (al igual que Brasil) fue una de las excepciones (36).

Asimismo, con los 4 serotipos cocirculando en El Salvador, se notificaron 9.860 casos hasta la semana epidemiológica 26 del año 2022, 7.529 casos más en comparación con el mismo período de 2021 (37). En Colombia se reportaron 13.701 casos más de DEN que lo reportado en el mismo período de 2021, con un total de 30.699 casos. Nicaragua registró 22.887 casos, cifra apenas diferente a 2021 (n = 22.124). Lo mismo ocurre en México, donde se han notificado 12.842 casos sin incremento significativo y con una disminución en comparación con años anteriores (2).

La incidencia del DEN ha aumentado drásticamente en todo el mundo. Perú es un país endémico, donde más de la mitad de la población está en riesgo de infección por DENV debido a que 17 de los 25 departamentos se cree que están habitados por mosquitos vectores. En los últimos años, Perú ha enfrentado números récord de casos de DEN, particularmente en la región amazónica, que probablemente estén asociados con el cambio climático. Esto es particularmente importante ya que Perú experimenta una ola de calor sin precedentes, superando el máximo histórico de 41,1 °C en 1963. Este aumento de temperatura debido al cambio climático podría influir negativamente en el riesgo de transmisión del DEN. Esto resalta la necesidad de estudios actuales sobre el DEN y otras enfermedades asociadas con el cambio climático (36).

Se infiere que los cambios climáticos exacerbén el problema y aumenten la población en riesgo a 6.100 millones de personas para 2080 (aproximadamente el 60% de la población mundial). El calentamiento global, que se prevé que aumente la temperatura de la tierra entre 2,5 y 2,9 °C para finales de siglo, provocará un aumento de la transmisión en las zonas endémicas actuales y ampliará las zonas de riesgo, lo que conducirá a una propagación acelerada de los vectores y a la expansión de todas las infecciones por arbovirus, como el DENV, chikungunya, el zika y la fiebre amarilla. Además, los estudios han demostrado que después de introducirse en una zona específica, las especies de *Aedes* pueden mutar genéticamente para mantener las tasas de transmisión a temperaturas más bajas (9).

Los factores de seguimiento que impulsan la expansión global de arbovirus como DENV están limitados por la calidad de la vigilancia de la enfermedad. En muchas regiones, la incidencia del DEN sigue siendo baja, pero es difícil determinar si esto se debe a bajas tasas de notificación en

lugar de a una baja carga de enfermedad. Trabajos recientes e históricos sugieren que la fuerza de la infección (FoI), definida como la tasa *per cápita* a la que los individuos susceptibles se infectan en una población dentro de un período determinado, se puede estimar directamente a partir de datos de incidencia estratificados por edad y proporciona una medida útil de la intensidad de la transmisión. La distribución por edad de la incidencia es una medida más precisa de la intensidad de la transmisión que los datos del recuento de casos agregados y, en general, refleja estimaciones de la intensidad de la transmisión realizadas utilizando datos de seroprevalencia de referencia (1, 2).

Cuando se dispone de datos de seroprevalencia o incidencia estratificados por edad longitudinalmente, es posible estimar cambios en la FoI a lo largo del tiempo, como se demostró originalmente para la hepatitis A y numerosas veces para el DENV. Los impulsores de las enfermedades arbovirales se pueden estudiar en Ecuador, un país sudamericano ecológica y demográficamente diverso con múltiples regiones distintas con transmisión de arbovirus reportada. Estudios previos en centros urbanos de Ecuador han demostrado que el acceso al agua y los métodos de almacenamiento del hogar, el hacinamiento, las condiciones de la vivienda, la recolección de basura y el conocimiento del dengue son fuertes predictores locales de la presencia y densidad de pupas de *Aedes aegypti*, así como de los casos de DEN (2).

Las casuísticas de DEN y la densidad vectorial en las comunidades urbanas y rurales a lo extenso de la región oriental costera de Ecuador, se ven afectadas por factores climáticos estacionales e interanuales, con predictores potenciales como las precipitaciones y la temperatura ambiental mínima. Las provincias amazónicas más remotas han sido menos investigadas, aunque los estudios de mapeo vectorial han sugerido condiciones adecuadas para el *Aedes aegypti* en partes de esta región (3). Ecuador tiene una historia larga de transmisión de arbovirus, que comenzó con el primer registro en 1740 de un caso de fiebre amarilla y el primer brote en 1842. Entre 1946 y 1970, las campañas de erradicación se centraron en los vectores de la fiebre amarilla y la malaria, lo que resultó en una importante reducción de las poblaciones de vectores, seguido de la reintroducción de los cuatro serotipos DENV. Brotes nacionales de DEN ocurrieron en Ecuador en 1996, 2000, 2005, 2010, 2012 y 2014 y desde 2000, los cuatro serotipos DENV se han detectado en todas las regiones. Los análisis filogenéticos han demostrado introducciones recientes e históricas de DENV1, DENV2 y DENV4 en Ecuador que probablemente se originaron en Venezuela y Colombia, mientras que el chikungunya probablemente se introdujo a través del Caribe (3).

## **Diagnóstico serológico de la infección por virus dengue**

Numerosos parámetros virológicos e inmunológicos se han considerado útiles para delinear la patogénesis del DENV que, sin embargo, varía entre individuos y con infecciones primarias y secundarias. Como no existe un tratamiento específico para el dengue, la detección temprana de la enfermedad, la evaluación de la progresión y la predicción del resultado mediante el estudio de los marcadores de laboratorio ayudarán a guiar el manejo de los casos y reducir la morbilidad y la mortalidad (29).

Diferenciar entre infecciones primarias y secundarias por DENV es importante desde un punto de vista pronóstico y epidemiológico. Los anticuerpos IgM se pueden demostrar en el suero de los pacientes de tres a cinco días después del inicio de la enfermedad, siguen aumentando durante casi dos semanas y persisten durante casi 179 y 139 días en la infección primaria y secundaria, respectivamente. Por el contrario, en la fase aguda de las infecciones secundarias por DENV, se detectan altos niveles de anticuerpos IgG reactivos cruzados con una respuesta IgM previa o simultánea. El aumento rápido de los niveles de IgG en los primeros días de la enfermedad durante la infección secundaria es indicativo de dengue cuando se calculan las proporciones de IgM e IgG (38).

Se define caso de DEN confirmado por laboratorio como un caso sospechoso de DEN con una de las siguientes pruebas positivas: (i) prueba del antígeno NS1 (proteína no estructural 1), (ii) aislamiento del virus del dengue, (iii) virus del dengue detectable en reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (hasta el 5º día después del inicio de los síntomas), (iv) detección de anticuerpos del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de inmunoglobulina M (a partir del 6º día del inicio de los síntomas) contra el virus del dengue, (v) aumento de 4 (cuatro) veces en los títulos de anticuerpos en pruebas de neutralización por reducción de placa o prueba de inhibición de la hemaglutinación, utilizando muestras pareadas (fase aguda y convaleciente), o (vi) virus del dengue detectable en histopatología e inmunohistoquímica (25).

Se ha sugerido que los métodos que discriminan la infección primaria y secundaria por DENV son importantes desde un punto de vista pronóstico. El ensayo de inhibición de la hemaglutinación (HAI) fue anteriormente la prueba estándar de oro para diferenciarlas. Sin embargo, debido a varias limitaciones prácticas, hoy en día, el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) de captura de IgM e IgG ha reemplazado al ensayo HAI, utilizándose ampliamente por la

automatización, simplicidad, alta sensibilidad y especificidad; sin embargo, estudios recientes han demostrado que las pruebas rápidas como el antígeno NS1 DENV e IgM/IgG en muestras de suero/plasma en un entorno de laboratorio y en el campo, son ideales para su uso en un contexto de alta prevalencia o de brote y pueden implementarse en ausencia de una prueba confirmatoria para pacientes agudos y convalecientes (39).

En áreas endémicas, donde hay transmisión de otros flavivirus como el virus Zika, el virus Chikungunya y el virus de la fiebre amarilla, el diagnóstico diferencial puede ser difícil porque las manifestaciones clínicas son similares y las pruebas serológicas pueden reaccionar de forma cruzada con la infección o vacunación previa. En tales casos, se recomienda el diagnóstico molecular con RT-PCR si es posible. Si la única evidencia de dengue es una prueba positiva de IgM anti-DENV, se puede realizar una prueba de neutralización por reducción de placa para cuantificar los títulos de anticuerpos específicos del virus y confirmar el diagnóstico. Sin embargo, esta prueba rara vez está disponible en los laboratorios clínicos (29).

La medición de la carga viral mediante la detección de ácidos nucleicos genómicos en pacientes infectados se considera el estándar de oro para diagnosticar la infección por DENV en la etapa preliminar de la infección. Alternativamente, la proteína NS1 en el DENV tiene importancia clínica al permitir que las personas detecten el virus en la fase temprana (0 a 14 días). La respuesta inmunitaria contra la infección viral comienza a desarrollarse después de unos días de la aparición de los síntomas. Como resultado, la respuesta IgM e IgG del sistema inmunológico también se considera un posible medio de diagnóstico del DENV. Además, la infección por DENV co-circula con otros flavivirus, especialmente con el virus Zika; por lo tanto, la detección específica de DENV juega un papel vital en el manejo del brote de DENV (40).

Los métodos de diagnóstico convencionales requieren instalaciones sofisticadas, así como personal capacitado. La mayoría de las pruebas desarrolladas no son adecuadas para entornos con recursos limitados, aunque el DENV se distribuye principalmente en países con bajos recursos. Los resultados falsos positivos/negativos restringen aún más la implementación de medidas de control del DEN, ya que solo un tercio de los casos diagnosticados se confirman con otra prueba. En la actualidad, existen numerosos métodos convencionales para realizar pruebas de detección del DENV, como las pruebas de antígeno basadas en NS1, las pruebas de anticuerpos IgM/IgG y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estos métodos pueden ser eficaces en zonas rurales y de bajos ingresos de todo el mundo (41).

## **Fisiopatología de la trombocitopenia**

Según la definición estándar, la trombocitopenia se caracteriza por un recuento de plaquetas por debajo de  $<150.000/\text{mm}^3$ , y la trombocitopenia grave se clasifica como un recuento de plaquetas por debajo de  $<50.000/\text{mm}^3$ . La trombocitopenia es un problema prevalente que afecta a una parte significativa de los pacientes en las UCIs y quirúrgicos, afectando aproximadamente al 40%–50% de los individuos. Los trastornos de coagulación observados con mayor frecuencia en estos pacientes implican anomalías tanto en el número como en la función de las plaquetas. Además, la trombocitopenia es el problema de coagulación predominante que se encuentra en la UCI (27).

Las plaquetas desempeñan un papel decisivo como línea de defensa inicial cuando las superficies endoteliales de los vasos sanguíneos se dañan. Esto expone en la capa subendotelial varios componentes de la coagulación como el factor tisular, el colágeno y el factor von Willebrand (vWF), que inician la agregación plaquetaria mediada por el fibrinógeno y el vWF. En secuencia rápida, las plaquetas sufren cambios de forma, desgranulación y exposición a fosfolípidos de la superficie, lo que lleva a la producción de cantidades pequeñas de trombina. Esto, a su vez, desencadena la amplificación del proceso de coagulación. La liberación endotelial activada del VWF de los cuerpos de Weibel Palade a la circulación y las plaquetas pueden adherirse al VWF activado (13).

Los factores primarios que conducen a un recuento plaquetario reducido involucran dos mecanismos principales: disminución de la producción y aumento de la destrucción de plaquetas. Los ejemplos de disminución de la producción incluyen síndromes de insuficiencia de la MO, mientras que puede ocurrir un aumento de la destrucción en afecciones como la coagulación intravascular diseminada (CID), microangiopatías trombóticas y aumento del aclaramiento plaquetario mediado por anticuerpos. La trombocitopenia, abarca una variedad de mecanismos subyacentes. Aunque menos común, el secuestro plaquetario y la hemodilución también contribuyen a la trombocitopenia. Además, se observa un aumento de la destrucción en afecciones como las microangiopatías trombóticas y la trombocitopenia inmunitaria (PTI) (15).

Se han llevado a cabo investigaciones para determinar los parámetros clínicos y de laboratorio que pueden predecir pacientes con mayor riesgo de complicaciones y mortalidad. Los parámetros de laboratorio incluyen hemograma completo, gases en sangre arterial (ABG) y nivel de lactato sérico. Se ha informado que el edema de la pared de la vesícula biliar es una característica temprana del

síndrome de fuga del DEN; sin embargo, los resultados de estos parámetros son contradictorios (4).

El curso de la enfermedad varía de asintomático a potencialmente mortal, y la incubación suele durar de tres a catorce días. La infección secundaria con un segundo serotipo a menudo resulta en un peor pronóstico. Las tres fases de la infección (febril, crítica y de recuperación). La fase febril comienza alrededor del día cuatro a siete de la infección y dura alrededor de tres a siete días. La fiebre es repentina durante el inicio y típicamente alta (superior a 40 °C), y dura de dos a siete días. Puede ir acompañada de mialgias, artralgias, náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, linfadenopatía, hepatomegalia, erupción maculopapular, leucopenia, trombocitopenia y transaminitis. La fase crítica de la infección puede seguirse después de la defervescencia y es más común en pacientes con infección secundaria y otras comorbilidades. La trombocitopenia es común y puede ocurrir con fuga vascular, shock y deterioro orgánico (5).

El secuestro plaquetario se observa en la esplenomegalia congestiva resultante de la hipertensión portal. Esta afección puede estar asociada con insuficiencia cardíaca, trombosis de la vena hepática, cirrosis por trombosis de la vena cava y, en casos raros, malformación arteriovenosa de los vasos esplénicos (28). Asimismo, una descripción cinética del recuento plaquetario en DCSA muestra una disminución significativa en el cuarto día de la enfermedad. De hecho, estudios previos informan en pacientes adultos con DCSA sin shock, recuentos plaquetarios que disminuyeron leve a moderadamente en el tercer día hasta el séptimo día de la enfermedad y alcanzaron niveles normales en el octavo o noveno día (9).

### **Trombocitopenia y riesgo de sangrado en el dengue**

El recuento de plaquetas es el único parámetro que controlan diligentemente los pacientes que padecen DEN dado que existe una creencia generalizada, de que la trombocitopenia que provoca hemorragias graves es la complicación más temida del DEN. Los pacientes con trombocitopenia moderada son ingresados innecesariamente en la UCI para “observación” y, lo que es peor, a menudo reciben transfusiones de plaquetas innecesarias. La patogenia de la trombocitopenia en el DEN es complicada. La supresión de la MO contribuye al bajo recuento de plaquetas. Existen varios mecanismos que causan la destrucción periférica de las plaquetas, a saber, una cascada del complemento activada, la fagocitosis y la lisis mediada por anticuerpos. También está presente la disfunción plaquetaria. Sin embargo, varios estudios sugieren que el riesgo de sangrado en

pacientes con dengue no se correlaciona con el recuento de plaquetas. Estos estudios también han propuesto que existe un mayor riesgo de complicaciones en pacientes que reciben transfusiones profilácticas de plaquetas. Las plaquetas desempeñan un papel pequeño en el desarrollo de sangrado en el DEN. La coagulopatía y el daño vascular directo también son factores importantes (42).

Asimismo, los índices plaquetarios (IP) son un grupo de parámetros plaquetarios que se obtienen automáticamente como parte del hemograma completo, sin ningún coste adicional. Por tanto, la medición simultánea de todos los IP (recuento plaquetario, volumen plaquetario medio [VPM], amplitud de distribución plaquetaria [ADP], proporción de plaquetas grandes [PCLR], plaquetocrito [PCT] y fracción de plaquetas inmaduras [IPF]) proporcionará un instrumento válido para medir la enfermedad. La importancia clínica, los valores de referencia y la utilidad de algunos de estos parámetros todavía están bajo investigación. Un estudio llevado a cabo por Asha y col. (7) evidenciaron que los IP pueden actuar como una herramienta predictiva en el diagnóstico y de resultados en el DEN. Se encontró que el recuento bajo de plaquetas y PCT, el PDW, el MPV, el PLCR y el IPF elevados en pacientes con DEN transfundidos eran estadísticamente significativos. El estudio de Logia y col. (27) se suma al conjunto de evidencias de que no existe correlación entre el recuento de plaquetas y el riesgo de “hemorragia clínicamente significativa” o HCS en pacientes con DEN. Este estudio también sugirió que un TTP elevado ( $> 40$ ) era un fuerte predictor de la hemorragia clínicamente significativa. Esto está en línea con la teoría de que la coagulopatía debida a una disminución de los factores de coagulación contribuye a la hemorragia en el DEN. Es lógico que una mayor gravedad de la enfermedad se asocie con un mayor riesgo de hemorragia. La fiebre fue el tercer parámetro asociado con un mayor riesgo de hemorragia en este estudio. Se sabe que la fiebre alta afecta la función plaquetaria y el control agresivo de la fiebre podría ser una de las estrategias para reducir el riesgo de hemorragia; sin embargo, esto necesita demostrarse.

En líneas generales, las infecciones virales frecuentemente resultan en trombocitopenia, y los virus emplean una variedad de técnicas únicas para reducir la cantidad de plaquetas circulantes. La infección de megacariocitos por virus, que puede resultar en apoptosis de megacariocitos, maduración disminuida de megacariocitos y ploidía, o expresión disminuida del receptor de trombotocina, puede causar una reducción en la producción de plaquetas. Sin embargo, los virus pueden afectar a las células madre hematopoyéticas, lo que conduce a una reducción en las células progenitoras y la creación de unidades formadoras de colonias de megacariocitos con bajo

potencial de crecimiento como resultado de la producción interrumpida de citocinas por las células infectadas en la MO (28).

La inducción de interferón-alfa/beta ( $IFN\alpha/\beta$ ), inhibe la formación de proplaquetas, y la focalización y modulación de las funciones hepáticas, cruciales para la producción del factor de crecimiento y desarrollo de megacariocitos trombopoyetina, son dos mecanismos indirectos adicionales a través de los cuales los virus pueden afectar la producción de plaquetas (29). La promoción de la lisis plaquetaria, que tiene lugar durante la viremia, es otra forma en que los virus causan trombocitopenia. Los virus pueden interactuar con las plaquetas directamente o a través de inmunocomplejos que incluyen antígenos virales e inmunoglobulinas G (IgG) (24). Las integrinas de la superficie plaquetaria y los antígenos antivirales interactúan con frecuencia, lo que proporciona un mecanismo adicional para la destrucción plaquetaria inducida por el virus (33).

Las manifestaciones hemorrágicas son comunes en el DEN y afectan aproximadamente al 20%–60% de los pacientes hospitalizados. Si bien el sangrado mucocutáneo suele ser leve, puede ocurrir una hemorragia grave en los sistemas gastrointestinal, ginecológico y pulmonar, que conduce a desenlaces fatales. Curiosamente, varios estudios han informado una correlación débil de la trombocitopenia y las anomalías de la coagulación con la incidencia y la gravedad del sangrado. Además, la duración del shock es uno de los principales factores de riesgo de hemorragia grave en pacientes con DG. Los esfuerzos para monitorear de cerca el hematocrito y la terapia intravenosa vigorosa pueden ser cruciales para reducir el uso de productos sanguíneos y acortar la estadía en el hospital (30).

### **Vías de coagulación, fibrinólisis y anticoagulación en el dengue**

En pacientes con DEN, también se han descrito alteraciones en diferentes elementos de la cascada de coagulación y vías de fibrinólisis. El tiempo de protrombina, el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y el tiempo de trombina ligeramente prolongados son comunes, especialmente en el DG, lo que puede estar relacionado con daño hepático y activación de la coagulación que conduce al consumo de factores de coagulación. En la etapa febril también se ha demostrado aumento importante del factor tisular. En la fase crítica se han descrito cambios en el sistema fibrinolítico, con ligeros aumentos de las concentraciones del activador tisular del plasminógeno (tPA) e inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1); mientras que los niveles de inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina están reducidos. Estos hallazgos se correlacionan con peores

resultados, lo que puede reflejar el desequilibrio entre los mecanismos procoagulantes y fibrinolíticos. La mayoría de los pacientes se recuperan espontáneamente de estas anomalías de laboratorio durante la etapa de convalecencia (11).

Tanto la coagulación como la fibrinólisis se activan durante la infección aguda por DENV, lo que conduce a alteraciones en sus parámetros. El perfil cinético de los marcadores circulantes de coagulopatía, como el dímero D (DD), fibrinógeno, el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y el tiempo de protrombina (TP), demostró que estos parámetros aumentan en pacientes en la fase aguda de la enfermedad. Es importante destacar que demostraron que todos los pacientes con DCSA y DG tenían manifestaciones de CID aguda, en las que detectaron TTPa y TP prolongados transitorios, disminución de los recuentos de plaquetas, fibrinógeno, protrombina, factor VIII, plasminógeno y actividades de antitrombina, significativamente más altos durante la fase febril, seguido de una normalización gradual durante la fase de convalecencia (27).

La propagación exponencial de la COVID-19 que comenzó a principios de 2020 dio lugar a una de las peores pandemias mundiales, lo que dio lugar a una serie de desafíos clínicos, incluida la respuesta a patrones únicos de anomalías de la coagulación. El brote de COVID-19 ha aumentado aún más los desafíos clínicos en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde el DEN, también es endémica. La trombocitopenia leve a moderada es común a ambas afecciones, pero tienen diferentes etiologías clínico-patológicas y enfoques de tratamiento, lo que hace que el diagnóstico temprano sea clave para prevenir resultados graves. Existe preocupación por el uso indiscriminado de transfusiones profilácticas de plaquetas en las infecciones virales por DENV, especialmente en áreas tropicales endémicas donde la disponibilidad de servicios de transfusión seguros sigue siendo un desafío significativo debido a mayores riesgos de infecciones transmitidas por transfusión y otras preocupaciones inmunológicas (8).

Las complicaciones hematológicas relacionadas con la infección por DEN son poco frecuentes e incluyen recuento bajo persistente de plaquetas y linfocitosis hemofagocítica (HLH). La trombocitopenia persistente es una complicación rara después de la infección por DEN. En el contexto de una púrpura trombocitopénica inmunitaria secundaria, se define como el recuento bajo prolongado de plaquetas después de la fase de recuperación. El mecanismo aún se desconoce, aunque se puede encontrar IgG antiplaquetaria persistente, lo que sugiere una destrucción plaquetaria inmunitaria (22).

El síndrome de activación de macrófagos o linfocitosis hemofagocítica (LHH) es una complicación hematológica potencialmente mortal de la infección por DENV. La LHH secundaria (sLHH) involucra un estado hiperinflamatorio que resulta de una activación muy fuerte del sistema inmunitario, causada por afecciones como las infecciones, neoplasias malignas y enfermedades autoinmunes. Durante la LHH, ocurre en la médula ósea, una estimulación inadecuada de los macrófagos que conduce a la fagocitosis de las células sanguíneas y a una liberación inapropiada en cascada de citocinas proinflamatorias. Este síndrome presenta un reto diagnóstico en pacientes con DEN, debido en parte, a la posible superposición de síntomas, como fiebre, citopenia y hepatomegalia. Debe sospecharse en casos de trombocitopenia persistente de más de 10 días, fiebre durante más de 7 días e hiperferritinemia (31).

## **Metodología**

### **Diseño del estudio**

Se realizó un estudio con diseño observacional, de tipo analítico, transversal y retrospectivo, dado que los estudios observacionales corresponden a diseños de investigación cuyo objetivo es la observación y registro de acontecimientos sin intervenir en el curso natural de éstos. Las mediciones, se centraron en hechos o datos del pasado (estudio retrospectivo) y los datos de las variables recopiladas sobre una población o muestra correspondieron a una medición y única vez en el periodo de tiempo (estudio transversal). Este estudio además es analítico porque se evalúan asociaciones estadísticas entre las variables del estudio (43).

### **Población y muestra**

La población estuvo conformada por los pacientes atendidos en el año 2023 y por ser una muestra finita, se incluyó el total de la población de pacientes, conformada por 295 pacientes adultos, de acuerdo a la base de datos del Laboratorio Clínico privado RECK-LAB, ubicado en el Cantón Flavio Alfaro en la provincia de Manabí, Ecuador, perteneciente al Distrito 13D07.

Se aplicaron los siguientes criterios de selección:

### **Criterios de inclusión**

- Fueron seleccionados sin discriminación de sexo, etnia o procedencia pacientes adultos mayores de 18 años de edad con infección confirmada de dengue.
- Con disponibilidad en sus registros de los resultados de las pruebas de biometría hemática y de coagulación para valorar la trombocitopenia y serológicas para el diagnóstico del dengue.
- Pacientes que fueron atendidos en el Laboratorio Clínico privado RECK-LAB durante el año 2023.

### **Criterios de exclusión**

- Se excluyeron pacientes cuyos registros estuviesen incompletos
- Embarazadas
- Con trombocitopenia debido a otras causas
- Con condiciones declaradas de inmunosupresión

### **Consideraciones éticas**

Se emitieron los oficios de solicitud de autorización para realizar el estudio dirigido a las autoridades de las instituciones participantes, serán el Laboratorio Clínico RECK-LAB y a la Coordinación de la Maestría en Ciencias del Laboratorio Clínico de la Universidad Estatal del Sur de Manabí, para asegurar el cumplimiento de las normativas éticas nacionales e internacionales, así como lo establecido en la Ley Orgánica de Protección de Datos Personales (44).

Para dar cumplimiento a las normas éticas nacionales e internacionales para las investigaciones médicas en seres humanos (45), el protocolo de esta investigación fue sometido a la consideración del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos (CEISH) del Instituto Superior Tecnológico Portoviejo (ITSUP), autorizado por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador, dando constancia de su aprobación en el documento codificado con el N° 1724977241 de fecha 20 de septiembre de 2024 (Anexo 1). Asimismo, en esta fase se socializó la importancia junto a la problematización y justificación del proyecto, dando a conocer los objetivos establecidos ante los entes pertinentes.

## **Instrumento de recolección de datos**

Una vez identificados los pacientes que cumplieran con los criterios de selección se procedió a la recolección de datos en una matriz que codificada con una numeración arábica seguida del seudónimo “paciente” y del año de recolección de la muestra (1-paciente-2023), a fin de asegurar el uso de datos anónimos o sin información personal que permita la identificación del paciente. En dicha base de datos se incluyeron, además, de los resultados obtenidos de los parámetros necesarios para el estudio (valores plaquetarios y pruebas serológicas para dengue), datos demográficos como la edad y sexo.

## **Contaje plaquetario**

Cada paciente incluido en el estudio fue sometido a la recolección de muestras de sangre con y sin anticoagulante, para los estudios hematológicos y serológicos para el dengue, siguiendo el procedimiento de rutina. El personal autorizado determinó de manera automatizada y utilizando reactivos estandarizados para el analizador de hematología automático (BF-6900CRP Dirui®, China). Se aplicaron los siguientes valores de referencia: Plaquetas: 150-450  $\times 10^9/L$ .

## **Diagnóstico del dengue**

### **Determinación de anticuerpos séricos IgM e IgG anti-Dengue y antígeno viral NS1 DENV**

Para detectar cualitativamente los antígenos NS1 ( $\leq 5$  días de enfermedad) y los anticuerpos IgG e IgM anti dengue ( $> 5$  días de enfermedad) en las muestras para el diagnóstico de la infección, se utilizó la prueba de inmunocromatografía de tipo cassette o prueba rápida del dengue (ALL TEST™, China). El tipo de infección se determinó según la positividad o negatividad de la IgG acompañada de la positividad en el antígeno NS1 DENV o en los anticuerpos de fase aguda IgM específicos contra el virus, interpretándose como infección primaria por dengue cuando las pruebas NS1 o IgM fueron positivas e IgG negativo; mientras que la infección secundaria resultó cuando NS1 o IgM fueron positivas e IgG positiva (46).

Todas las muestras fueron procesadas en el Laboratorio del Centro Clínico Quirúrgico Ambulatorio Hospital del Día Nueva Loja y una vez obtenidos los resultados, las muestras son eliminadas como

desechos infecciosos y cortopunzantes de acuerdo a la normativa vigente desde el 2019 en el Ecuador (47).

### Cálculo de la frecuencia

La frecuencia fue calculada como medida más básica que se utiliza para establecer la repetición o presencia de una enfermedad o el número de casos o frecuencia absoluta en un momento determinado, se complementó con el cálculo de las frecuencias relativas del dengue según indicadores demográficos de edad y sexo de los adultos seleccionados durante el periodo del estudio. Se representan en valores porcentuales.

### Análisis estadístico

En el análisis de los resultados mediante estadística descriptiva, los datos fueron expresados en valores de frecuencias relativas y absolutas, tabulados o graficados y analizados mediante el uso apropiado del programa estadístico Graph Pad Prism 8.0®. La asociación de las variables o estadística inferencial fue analizada por la prueba del Ji-cuadrado y postest de Fisher, considerando un nivel de significancia de  $p < 0,05$ .

### Resultados

**Tabla 1:** Frecuencia de infección por dengue según la edad y el sexo de los pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico RECK-LAB, Cantón Flavio Alfaro, año 2023.

Grupos de edad (años)	Femenino		Masculino		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
18-27	40*	22,7	29*	24,4	69	23,4
28-37	39	22,2	21	17,6	60	20,3
38-47	34	19,3	25	21,0	59	20,0
48-57	27	15,3	17	14,3	44	14,9
58-67	20	11,4	13	10,9	33	11,2
68-91	16	9,1	14	11,7	30	10,2
<b>TOTAL</b>	<b>176**</b>	<b>59,7</b>	<b>119</b>	<b>40,3</b>	<b>295</b>	<b>100</b>

\* $p < 0,001$  con respecto a los grupos etarios mayores de 58 años. \*\* $p < 0,0001$  al comparar con la población masculina

Del total de 295 registros de pacientes atendidos durante el año 2023 en el Laboratorio Clínico RECK-LAB del Cantón Flavio Alfaro, con infección confirmada (NS1 DENV/IgM e IgG anti dengue). La edad de los pacientes se ubicó entre los 18 a 91 años de edad, con una mediana de 42 años. La frecuencia de la infección por DENV según la edad de los pacientes, evidenció que desde los 18 hasta los 57 años fue similar, resultando significativamente ( $p < 0,001$ ) más alta que en los grupos de 58-67 y 68 a 91 años. Con respecto a la frecuencia del DEN según el sexo de los pacientes, se observó una frecuencia de 59,7%, significativamente mayor ( $p < 0,0001$ ) en la población femenina al comparar con la población masculina cuya frecuencia fue de 40,3% (Tabla 1).

**Tabla 2:** Presencia de trombocitopenia en pacientes con infección confirmada por dengue atendidos en el Laboratorio Clínico RECK-LAB, Cantón Flavio Alfaro, año 2023.

Grado de trombocitopenia (x 10 <sup>9</sup> /L)	Con trombocitopenia		□±DE (x10 <sup>9</sup> /L)
	Número de casos dengue	Porcentaje	
Leve (100-149)	109	36,9	124±15,6
Moderado (50-99)	25	8,5	84,1±12,9
Severo (<50)	1	0,3	43±0,00
<b>Total</b>	<b>135</b>	<b>45,8</b>	<b>116,1±22,54</b>
<b>Sin trombocitopenia</b>			
Dentro del rango de referencia (150-450)	160	54,2	197±24,17
<b>Total</b>	<b>295</b>	<b>100</b>	

Para dar cumplimiento al segundo objetivo específico se analizó la prevalencia de trombocitopenia en pacientes con DEN atendidos en el Laboratorio Clínico RECK-LAB, durante el año 2023. Del total de 295 pacientes con infección por DENV confirmada, 45,8% de los pacientes con DEN presentaron trombocitopenia en diferentes grados con un promedio de  $116,1 \pm 22,5417 \times 10^9/L$  plaquetas. El 36,9% de los casos resultó con trombocitopenia leve, 8,5% moderada y 1 caso con

trombocitopenia severa. El 54,2% de los pacientes con DEN no presentó trombocitopenia ya que los contajes plaquetarios se encontraban dentro del rango de referencia con concentraciones promedio y desviación estándar de plaquetas de  $197 \pm 24,17 \times 10^9/L$  (Tabla 2).

**Tabla 3:** Relación entre los resultados obtenidos de antígenos NS1 DENV y anticuerpos IgM e IgG específicos contra el virus del dengue y la presencia de trombocitopenia en los pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico RECK-LAB, Cantón Flavio Alfaro, año 2023.

Prueba diagnóstica	Casos positivos por prueba	Trombocitopenia		$\chi^2$
		Presente	Ausente	
Anticuerpos anti-dengue	IgM (n=183)	132	51	*p=0,0002
	IgG (n =140)	72	68	p=0,7716
Antígenos	NS1 (n=112)	2	110	p=0,999

Con la finalidad de relacionar los resultados obtenidos de antígenos NS1 DENV y anticuerpos IgM e IgG específicos contra el virus del dengue y la presencia de trombocitopenia de la población en estudio, se aplicó la prueba de Chi cuadrado, evidenciándose una significativa asociación ( $p=0,0002$ ) entre la presencia de trombocitopenia con la positividad a los anticuerpos IgM anti-dengue, no observándose relación ni con los anticuerpos IgG, ni con el antígeno NS1 del virus (Tabla 3).

### Discusión de resultados

Las alteraciones en el recuento plaquetario, principalmente el descenso del número de plaquetas llamado plaquetopenia o trombocitopenia, se observan con frecuencia en los pacientes con infecciones virales y más aún en la infección por DENV; de hecho, cada año se producen casi 100 millones de nuevos casos de DEN en más de 120 países, con un aumento de cinco veces en la incidencia en las últimas cuatro décadas. Si bien muchos pacientes experimentan una enfermedad leve, un subconjunto sufre una enfermedad grave, que puede ser mortal, siendo la trombocitopenia y coagulopatía las principales causas de sangrado en el DG (48). El objetivo general del presente estudio fue determinar la infección por DENV y su relación con la trombocitopenia en pacientes adultos atendidos en el laboratorio clínico RECK-LAB, del Cantón Flavio Alfaro durante el año

2023. Al tiempo que se analizó la frecuencia del DEN y de la trombocitopenia en este grupo de pacientes ecuatorianos.

A este respecto en esta investigación se observó en el total de 295 registros de pacientes con DEN seleccionados una evidente y significativa frecuencia del DEN en la población femenina de 59,7%, al comparar con la población masculina, y una mayor afectación en el grupo etario de adultos jóvenes y medios (18-47 años), tanto en las mujeres como en los hombres. Esta distribución por edad corrobora las tendencias epidemiológicas existentes, que a menudo destacan una mayor incidencia de DEN entre los adultos jóvenes. Esto se corresponde, además, con el estudio de Copaja-Corzo y col. (49) al determinar los factores de riesgo asociados con la muerte por DEN en pacientes atendidos en un hospital II en Perú, donde de un total de 152 historias clínicas de pacientes con DEN confirmado por laboratorio, el 52,6% eran mujeres menores a 27 años.

También con la investigación de Sansone, Boschiero y Marson (50), al describir el perfil epidemiológico del DEN en Brasil, encontraron que el 55,5% de la población afectada por DENV fueron mujeres 19,43% en un rango de edad de 20 a 29 años y 16,83% de 30 a 39 años. Asimismo, con el estudio de Ramalingam y col. (30) en la India donde el 53,9% de los pacientes con DEN eran mujeres de 21 a 30 años.

La distribución por género en pacientes con DEN en varios estudios epidemiológicos demuestra un pronunciado predominio del sexo femenino sobre el masculino. Se explica esta disparidad como un reflejo de las diferencias en los patrones de exposición, o los comportamientos de búsqueda de atención médica, donde las mujeres con mayor permanencia en los entornos domésticos tienen una mayor exposición y se preocupan más por la salud y la asistencia médica que los hombres, así mismo se han establecido diferencias entre las respuestas inmunitarias y la mortalidad según el sexo. Un estudio reciente realizado en Bangladesh describe que, aunque el 62% de los casos de DEN eran hombres, el 58% de las muertes fue en mujeres, lo que indica un mayor riesgo de mortalidad entre las mujeres.

Esta investigación también identificó una posible disparidad específica por edad en la morbilidad y la mortalidad, lo que indica infecciones más graves en el grupo de mayor edad (51). Este estudio al igual que el de Vikhe y col. (52) describen mayor afectación del DEN en los hombres con un 65% y un 35% mujeres.

Es de destacar, que este estudio fue realizado en una de las provincias de mayor registro de casos de Dengue en Ecuador, donde se han reportado 27.838 casos en el año 2023 y en el año 2024 hasta

la semana epidemiológica 21 han notificado 33.203 casos confirmados de DEN, cifra que supera ampliamente las cifras de años anteriores, siendo las provincias más afectadas Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Los Ríos, El Oro, y Guayas. Manabí lidera el mayor número de casos confirmados de DEN y la tasa de transmisión más alta en el país y con una mayor afectación en mujeres de 20 a 49 años (53). Asimismo, en Argentina, entre las semanas epidemiológicas 1 y 32 del 2024, se reportaron un total de 571.650 casos de DEN confirmados, representando un incremento de 232% en comparación al mismo periodo del 2023 y 414% con respecto al promedio de los últimos 5 años, donde la mayor afectación se ubicó en mujeres en edades de 20 a 49 años de edad (54).

Un estudio reciente llevado a cabo por Katzelnick y col. (55) sobre la transmisión del DENV en las regiones ecológica y demográficamente distintas de Ecuador, donde analizaron datos de incidencia del DEN estratificados por edad a nivel provincial entre los años 2000 a 2019, evidenció que las provincias costeras con las ciudades más grandes y mejor conectadas tuvieron el aumento más temprano y más alto en la transmisión del DENV, que comenzó alrededor de 1980 y continúa hasta el presente. Por el contrario, las áreas remotas y rurales de menor acceso, como la costa norte y las regiones amazónicas, tuvieron una alta tasa de transmisión y de epidemia para el DENV, a partir de los últimos 10 a 20 años. Se estima que, el 56% de la población del país, incluidas las provincias de creciente transmisión viral, vive en áreas con riesgo alto de *Aedes aegypti*, siendo factores determinantes de importancia, el tamaño de la población, la altura, el acceso al agua y a la recolección de basura.

Es importante mencionar que al incluir el perfil racial de la población con DEN ha evidenciado cambios en el perfil epidemiológico en países como Brasil, donde del año 2023 al 2024 se produjo un aumento de más del 20% de casos y las personas negras (5,8%), las mestizas (40,6%) e indígenas (0,3%) tenían más probabilidades de padecer DEN en el 2024 en comparación con el 2023 (50). Un aspecto novedoso que valdría la pena analizar en países como Ecuador, donde la endemidad se hace cada vez más alta y aunque hay un aumento de casos sospechosos en personas de raza negra, mestizas e indígenas, pocos estudios han evaluado el impacto de la raza en el DEN y algunos realizados hasta el presente, han sido contradictorios.

Por otro lado, y siguiendo con los objetivos específicos planteados en la presente investigación, al determinar la frecuencia de trombocitopenia en los pacientes con DEN, se evidenció que el 45,8% de los pacientes con DEN presentaron trombocitopenia en diferentes grados de severidad con un

promedio de  $116,1 \pm 22,5417 \times 10^9/L$ . El 36,9% de los casos resultó con trombocitopenia leve, 8,5% moderada y 1 caso (0,3%) con trombocitopenia severa ( $<50 \times 10^9/L$ ). Esta muy documentado que el DENV puede causar trombocitopenia debido a la destrucción de plaquetas y la supresión de la MO, entre otros mecanismos descritos. En este estudio, se observó trombocitopenia en un alto porcentaje de los casos analizados; sin embargo, son cifras más bajas en comparación con estudios previos de Agrawal y col. (56), que observaron plaquetopenia en el 58,9% de los pacientes con DEN en la India.

Un hallazgo interesante fue descrito por Abbas y Kouser (26) al evaluar la relevancia de la trombocitopenia para otros estados de enfermedad en pacientes que acuden a un laboratorio de hematología, donde encontraron que la trombocitopenia estaba fuertemente asociada con el género femenino, en el presente estudio se observó que 44,3% (78/176) de las mujeres con DEN tenían trombocitopenia, mientras que sólo el 22,7% (27/119) de los hombres presentó plaquetopenia. Asimismo, de acuerdo a los hallazgos obtenidos se plantea utilizar un valor de corte de recuento de plaquetas inferior a  $84 \times 10^9/L$  (según el valor promedio de la trombocitopenia en grado moderado en los pacientes con DEN), como indicador de un mayor riesgo a evolucionar a DG en estos pacientes.

Este hallazgo subraya el papel fundamental de los recuentos de plaquetas como marcador pronóstico de la gravedad del DEN, y destaca la importancia de la trombocitopenia como un indicador temprano en la evaluación clínica, lo que enfatiza su utilidad para identificar a las personas con mayor riesgo y orientar las estrategias de intervención temprana para mitigar los resultados adversos, tal como lo describen Vikhe y col. (52) en su estudio, donde su modelo predictivo para el DG utilizando el recuento plaquetario, demostró una capacidad sólida para anticipar el DG, lo que indica una mayor severidad con un recuento de plaquetas más bajo, que en su estudio se estableció en  $<25 \times 10^9/L$  plaquetas, dado que la mayoría de los pacientes con DEN de mayor gravedad estuvieron en ese límite. En el presente estudio solo el 0,3% de los pacientes con trombocitopenia tenían grado severo; es por ello que se plantea el conteo de plaquetas en grado moderado como límite predictivo encontrado en este grupo de pacientes.

Ramalingam y col. (30) en su investigación transversal y retrospectiva dirigida a identificar los factores de riesgo asociados con la trombocitopenia como factor clave para un mejor seguimiento en pacientes con DEN, observaron plaquetas inferiores a  $50 \times 10^9/L$  en el 41,2% de los pacientes. En cuanto a los predictores de trombocitopenia que evaluaron entre AST, ALT, nivel de Ns1AG y

leucopenia; AST y ALT se correlacionaron inversamente con la trombocitopenia; mientras que Ns1Ag y leucopenia no se asociaron con trombocitopenia. El análisis de regresión múltiple para encontrar los predictores de plaquetas bajas muestra que ningún factor fue predictor estadísticamente significativo corroborando lo encontrado en la presente investigación en relación a la falta de asociación entre el antígeno NS1 DENV y la trombocitopenia.

A este respecto, la presente investigación al analizar el valor predictivo de la trombocitopenia en los pacientes con DEN, se determinó la relación estadística entre los marcadores serológicos diagnósticos para la infección por DENV y la presencia de trombocitopenia, encontrándose asociación con los anticuerpos IgM, mas no con el antígeno NS1 viral, lo que confirma en parte la hipótesis de trabajo de esta investigación. La no asociación con el antígeno NS1 del DENV y los anticuerpos IgG con la trombocitopenia, podría explicarse por lo temprano (< cinco días de evolución) que el antígeno viral debe detectarse y la evolución clínica del DEN, dado que la enfermedad se inicia repentinamente después de un periodo de incubación de entre 5 y 7 días, y el curso clínico sigue 3 fases: febril con una permanencia de 2 a 7 días, crítica que comienza en la defervescencia y generalmente dura de 24 a 48 horas, la mayoría de los pacientes mejora clínicamente durante esta fase; sin embargo, los que tienen una extravasación significativa del plasma, en unas horas pueden presentar DG. En la fase de convalecencia, mejora el bienestar del paciente y se estabiliza el estado hemodinámico. Los signos de alarma en el DEN que podría incluir una trombocitopenia moderada a francamente severa, por lo general ocurren en la última parte de la fase febril alrededor del momento de defervescencia (57).

Un estudio realizado en Guatemala corrobora que de 206 pacientes con DCSA, el 93,2% presentó trombocitopenia en un máximo de 8 días (58). De forma similar, revisiones sistemática y metanálisis recientes coinciden que dentro de las 72 horas posteriores al inicio de la fiebre entre los diferentes niveles de gravedad del DEN, se ha encontrado que las alteraciones del recuento de plaquetas y del nivel de AST son marcadores independientes que predicen el desarrollo de DG (59, 60).

Asimismo, por ser Ecuador un país endémico para la infección por DENV, en esta investigación fue evidente un 60,6% de infecciones secundarias de DEN, según el patrón serológico de IgG observado, de los cuales poco más de la mitad (51,4%) presentaron trombocitopenia, lo que podría sugerir que la falta de asociación entre estos anticuerpos y la trombocitopenia, podría estar relacionada a la gravedad de los casos analizados; sin embargo, este no fue un aspecto evaluado en

este estudio, que merece ser incluido en estudios futuros; en especial porque autores como Sarkar y col. (29), encontraron en un grupo de 316 pacientes con DEN, que la infección secundaria estuvo presente en el 83,33% de los pacientes, el 71% de los casos fueron DCSA y el 57% de los casos de DG, lo que se correlacionó positivamente con las enzimas hepáticas y la carga viral y se correlacionó negativamente con el recuento de plaquetas.

El diagnóstico efectivo y rápido del DEN es esencial para reducir la morbilidad y la mortalidad asociadas con la forma grave. El diagnóstico por marcadores específicos, como el antígeno NS1 o anticuerpos IgM/IgG por métodos serológicos, es la opción de investigación y el biomarcador no específico más utilizado es el recuento de plaquetas, tal como se planteó en la presente investigación, donde se encontró asociación estadística con los anticuerpos mas no con la NS1. Contrario a ello, Gohel y col. (61) evaluaron y correlacionaron los resultados de dos métodos de diagnóstico serológico (antígeno NS1 DENV y anticuerpos IgM anti-dengue por ELISA) con el recuento de plaquetas para el diagnóstico de la infección por DENV. Encontraron en 393 muestras positivas a DENV por cualquiera de los métodos ensayados trombocitopenia menor a  $100 \times 10^9/L$  en 301 casos seropositivos, lo que llevó a estos autores a concluir que los parámetros específicos del DEN (detección de NS1/IgM) en combinación con el recuento de plaquetas ayudan a lograr un diagnóstico preciso y oportuno y un mejor seguimiento en el manejo clínico de los pacientes.

Es de mencionar que este estudio, tiene ciertas limitaciones que deben ser consideradas al momento de analizar los resultados. La principal limitación fue su carácter retrospectivo, lo que impidió evaluar ciertas variables que podrían ser factores de confusión o contribuir a explicar el fenómeno de estudio (como la automedicación y otras infecciones concomitantes). Asimismo, debido a los recursos limitados disponibles, las pruebas de NS1 e IgM para dengue fueron cualitativas.

Esto también restringe la posibilidad de evaluar si los niveles cuantitativos de NS1 e IgM/IgG se asocian con el bajo contaje plaquetario o trombocitopenia en estos pacientes. Adicionalmente, el estudio solo se realizó en una institución, por lo que se recomienda a partir de los resultados alcanzados, realizar estudios prospectivos multicéntricos, que permitan entre otros aspectos, controlar sesgos, variables intervinientes y mejorar la capacidad de inferencia de los resultados obtenidos a toda la población ecuatoriana.

En el futuro, es imperativo considerar las implicaciones más amplias de estos hallazgos en el contexto del manejo del DEN. En primer lugar, la sólida capacidad predictiva del recuento de plaquetas para identificar a los pacientes con riesgo de DCSA y DG subraya la importancia de las

evaluaciones hematológicas de rutina en los casos sospechosos. La integración de las mediciones del recuento de plaquetas en los protocolos de diagnóstico estándar puede facilitar la estratificación temprana del riesgo, lo que permitiría intervenciones específicas y un seguimiento estrecho de los individuos de alto riesgo. Además, el desarrollo y la validación de parámetros de rutina con valor pronóstico, como el presentado en este estudio, representan avances significativos hacia la mejora de la precisión de las predicciones de la gravedad del DEN.

Asimismo, esta investigación destaca la importancia y necesidad de fortalecer los programas de capacitación para profesionales de la salud y la necesidad de aumentar la investigación basada en evidencia de laboratorio para la precisión diagnóstica, la orientación, el desarrollo y la implementación de intervenciones de salud pública y la vigilancia epidemiológica, de la mayor arbovirosis del mundo, como lo es el DEN.

## **Conclusiones**

La frecuencia de infección por dengue en pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico RECK-LAB, del Cantón Flavio Alfaro durante el año 2023, fue comparable a lo descrito en países de alta endemicidad para el dengue y se correspondió a las casuísticas de la provincia, con una mayor afectación en mujeres (59,7%) y en los grupos de edad correspondientes a jóvenes y en adultez media de 18 a 57 años.

La trombocitopenia se identificó en el 45,8% de los pacientes con dengue, en diferentes grados de severidad, correspondiendo en su mayoría a pacientes con trombocitopenia leve. Este hallazgo destaca el papel fundamental de los contajes plaquetarios como marcador pronóstico de la gravedad del dengue y subraya la importancia de la trombocitopenia como un indicador temprano en la evaluación clínica, lo que enfatiza su utilidad para identificar a los pacientes con mayor riesgo.

Al relacionar los resultados obtenidos de antígenos y anticuerpos del Dengue y la presencia de trombocitopenia en la población en estudio fue evidente una significativa asociación de la presencia de trombocitopenia con la positividad a los anticuerpos IgM anti-dengue, no así con los anticuerpos IgG, ni con el antígeno NS1 del virus, lo que sugiere correspondencia según la fase de la infección.

## **Recomendaciones**

Los hallazgos destacan la necesidad de incorporar investigaciones locales basadas en el valor pronóstico, diagnóstico y de evolución de parámetros de laboratorio, como los evaluados en el

presente estudio, en la compleja patogénesis del dengue, que fortalezcan las evidencias en pro de mejorar el riesgo a evolucionar a dengue con signos de alarma y dengue grave y mejorar la capacidad de diagnóstico y de prevención de complicaciones en los pacientes ecuatorianos.

Realizar estudios prospectivos multicéntricos que incluyan grados de severidad de la infección, factores predisponentes, entre los cuales el sexo, la edad y la etnia son indispensables debido a los cambios en los patrones epidemiológicos observados en otros países y la implementación evaluando costo-beneficio de las pruebas cuantitativas que permitan correlacionar los parámetros que se estén evaluando y eliminar algunas limitaciones observadas.

Promover una mayor divulgación en las comunidades en general y la capacitación en el personal de salud, de los aspectos relacionados al diagnóstico de laboratorio y clínico integral del dengue, los mecanismos de transmisión de la infección, los factores de riesgo y medidas de prevención y control de la enfermedad.

## Referencias

1. World Health Organization (WHO). Dengue and severe dengue. 2024. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
2. Chaloeiwong J, Tantiworawit A, Rattanathammethee T, Hantrakool S, Chai-Adisaksopha C, Rattarittamrong E, et al. Useful clinical features and hematological parameters for the diagnosis of dengue infection in patients with acute febrile illness: a retrospective study. *BMC Hematol.* 2018; 18:20. doi: 10.1186/s12878-018-0116-1. PMID: 30181881; PMCID: PMC6114047.
3. Das S, Abreu C, Harris M, Shrader J, Sarvepalli S. Severe Thrombocytopenia Associated with Dengue Fever: An Evidence-Based Approach to Management of Thrombocytopenia. *Case Rep Hematol.* 2022; 2022:3358325. doi: 10.1155/2022/3358325. PMID: 35990285; PMCID: PMC9391179.
4. Islam A, Cockcroft C, Elshazly S, Ahmed J, Joyce K, Mahfuz H, et al. Coagulopathy of Dengue and COVID-19: Clinical Considerations. *Trop Med Infect Dis.* 2022;7(9):210. doi: 10.3390/tropicalmed7090210. PMID: 36136621; PMCID: PMC9500638.
5. Puc I, Ho TC, Chien YW, Tan SS, Fong YC, Chen YJ, et al. Mobilization of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells during Dengue Virus Infection. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(22):14330. doi: 10.3390/ijms232214330. PMID: 36430807; PMCID: PMC9699116.

6. Kok BH, Lim HT, Lim CP, Lai NS, Leow CY, Leow CH. Dengue virus infection - a review of pathogenesis, vaccines, diagnosis and therapy. *Virus Res.* 2023; 324:199018. doi: 10.1016/j.virusres.2022.199018. PMID: 36493993.
7. Quirino-Teixeira AC, Rozini SV, Barbosa-Lima G, Coelho DR, Carneiro PH, Mohana-Borges R, et al. Inflammatory signaling in dengue-infected platelets requires translation and secretion of nonstructural protein 1. *Blood Adv.* 2020;4(9):2018-2031. doi: 10.1182/bloodadvances.2019001169. PMID: 32396616; PMCID: PMC7218431.
8. Trugilho MRO, Hottz ED, Brunoro GVF, Teixeira-Ferreira A, Carvalho PC, Salazar GA, et al. Platelet proteome reveals novel pathways of platelet activation and platelet-mediated immunoregulation in dengue. *PLoS Pathog.* 2017;13(5): e1006385. doi: 10.1371/journal.ppat.1006385. PMID: 28542641; PMCID: PMC5453622.
9. Wong MP, Juan EYW, Pahmeier F, Chelluri SS, Wang P, Castillo-Rojas B, et al. The inflammasome pathway is activated by dengue virus non-structural protein 1 and is protective during dengue virus infection. *PLoS Pathog.* 2024; 20(4): e1012167. doi: 10.1371/journal.ppat.1012167. PMID: 38662771; PMCID: PMC11075848.
10. Hottz ED, Bozza FA, Bozza PT. Platelets in Immune Response to Virus and Immunopathology of Viral Infections. *Front Med (Lausanne).* 2018; 5:121. doi: 10.3389/fmed.2018.00121. PMID: 29761104; PMCID: PMC5936789.
11. Garcia FG, Helmo FR, Silva MVD, Rodrigues V Jr, Oliveira CJF, Teixeira LAS, et al. Elevated NS1 serum levels reduce CD119 expression and CXCL-10 synthesis in patients with dengue hemorrhagic fever. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2024; 57: e00410. doi: 10.1590/0037-8682-0577-2023. PMID: 39082520; PMCID: PMC11290849.
12. Asha J, Baiju NM, Innah SJ, Rafi A, John BM. Comparison of platelet indices in dengue fever patients based on platelet transfusion: A prospective observational study in a tertiary care center. *Asian J Transfus Sci.* 2023; 17(1):21-27. doi: 10.4103/ajts.AJTS\_24\_20. PMID: 37188027; PMCID: PMC10180782.
13. Pan American Health Organization/World Health Organization. PAHO/WHO. Data—Dengue cases. 2022. | Disponible en: <https://www3.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/indicadores-dengue-en/dengue-nacional-en/252-dengue-pais-ano-en.html>.
14. Soni S, Gill VJ, Anusheel S, Singh J, Chhabra J, Gill GJS, et al. Dengue, Chikungunya, and Zika: The Causes and Threats of Emerging and Re-emerging Arboviral Diseases. *Cureus.*

- 2023; 15(7): e41717. doi: 10.7759/cureus.41717. PMID: 37575782; PMCID: PMC10422058.
15. Stewart-Ibarra AM, Romero M, Hinds AQJ, Lowe R, Mahon R, Van Meerbeeck CJ, et al. Co-developing climate services for public health: Stakeholder needs and perceptions for the prevention and control of Aedes-transmitted diseases in the Caribbean. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(10):e0007772. doi: 10.1371/journal.pntd.0007772. PMID: 31658267; PMCID: PMC6837543.
  16. Hasan MM, Hernández-Yépez PJ, Rivera-Cabrera M, Sarkar A, Dos Santos Costa AC, Essar MY. Concurrent epidemics of dengue and COVID-19 in Peru: ¿Which way forward? *Lancet Reg Health Am*. 2022; 12:100277. doi: 10.1016/j.lana.2022.100277. PMID: 36776431; PMCID: PMC9903762.
  17. Ministerio de Salud. República de El Salvador. Dirección de Epidemiología. Boletín Epidemiológico Semana 26 (del 26 de junio al 2 de julio 2022). Situación epidemiológica del Dengue. 2022. Disponible en: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/v954f#:~:text=A%20la%20SE04%20del%202023,con%20631%20casos%20en%202022>.
  18. Ministerio de Salud Pública. Ecuador. Subsecretaria de Vigilancia de la Salud Pública. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Gaceta Epidemiológica año 2023. SIVEALERTA SE 50. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2023/12/Gaceta-de-Vectoriales-SE-50.pdf>
  19. Mahmood A, Haq AU, Amin S, Rahim F, Noor M, Gul H, Zafar S, et al. Predictors of mortality in patients with dengue fever: insights from a comparative analysis. *Cureus*. 2023;15(3): e36040. doi: 10.7759/cureus.36040. PMID: 37056528; PMCID: PMC10088565.
  20. Organización de las Naciones Unidas. Objetivos de Desarrollo Sostenible. ODS agenda 2030. 2015. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
  21. Secretaria Nacional de Planificación. República del Ecuador. 2021. Plan de Creación de Oportunidades 2021-2025. Disponible en: <https://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/2021/09/Plan-de-Creacio%CC%81n-de-Oportunidades-2021-2025-Aprobado.pdf>

22. Chao CH, Wu WC, Lai YC, Tsai PJ, Perng GC, Lin YS, et al. Dengue virus nonstructural protein 1 activates platelets via Toll-like receptor 4, leading to thrombocytopenia and hemorrhage. *PLoS Pathog.* 2019;15(4): e1007625. doi: 10.1371/journal.ppat.1007625. PMID: 31009511; PMCID: PMC6497319.
23. Pathak B, Chakravarty A, Krishnan A. High viral load positively correlates with thrombocytopenia and elevated haematocrit in dengue infected paediatric patients. *J Infect Public Health.* 2021;14(11):1701-1707. doi: 10.1016/j.jiph.2021.10.002. PMID: 34655984.
24. Quirino-Teixeira AC, Andrade FB, Pinheiro MBM, Rozini SV, Hottz ED. Platelets in dengue infection: more than a numbers game. *Platelets.* 2022;33(2):176-183. doi: 10.1080/09537104.2021.1921722. PMID: 34027810.
25. Losada PX, DeLaura I, Narváez CF. Dengue Virus and Platelets: From the Biology to the Clinic. *Viral Immunol.* 2022;35(5):349-358. doi: 10.1089/vim.2021.0135. PMID: 35483090.
26. Bernal C, Ping S, Rojas A, Caballero O, Stittleburg V, de Guillén Y, et al. Serum biomarkers and anti-flavivirus antibodies at presentation as indicators of severe dengue. *PLoS Negl Trop Dis.* 2023; 17(2): e0010750. doi: 10.1371/journal.pntd.0010750. PMID: 36848385; PMCID: PMC9997924.
27. Abbas FF, Kouser S. Assessment of clinical spectrum of thrombocytopenia and its association with different disease states reported in Dow Diagnostic Reference and Research Lab (DDRRL). *J Pak Med Assoc.* 2023; 73(12):2375-2378. doi: 10.47391/JPMA.7634. PMID: 38083915.
28. Logia P, Selvam V, Parasuraman V, Renuka MK, Rajagopalan RE. Predictors of Clinically Significant Bleeding in Thrombocytopenic Dengue Patients Admitted to Intensive Care Unit: A Retrospective Study. *Indian J Crit Care Med.* 2023;27(12):888-894. doi: 10.5005/jp-journals-10071-24574. PMID: 38074960; PMCID: PMC10701565.
29. Rasizadeh R, Ebrahimi F, Zamani Kermanshahi A, Daei Sorkhabi A, Sarkesh A, Sadri Nahand J, et al. Viruses and thrombocytopenia. *Heliyon.* 2024;10(6): e27844. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e27844. PMID: 38524607; PMCID: PMC10957440.
30. Sarkar S, Ghosh A, Nag S, Das S, Sarkar D. An Observational Study to Find the Association of Viral Load, NS1 Antigen, IgG antibody, and other laboratory parameters with the

- outcome of dengue patients in Eastern India. *Cureus*. 2024;16 (6): e63516. doi: 10.7759/cureus.63516. PMID: 39081415; PMCID: PMC11288338.
31. Ramalingam K, NNA, Perumalsamy R, Likhitha C, Raj A. Association Between Leucopenia, Transaminitis, Nonstructural Protein One Antigen (Ns1Ag) Level, and Thrombocytopenia in Adult Dengue Patients in a Tertiary Care Hospital: A Cross-Sectional Study. *Cureus*. 2024; 16(3): e55622. doi: 10.7759/cureus.55622. PMID: 38586655; PMCID: PMC10995891.
  32. Thapa B, Pandey A, Gautum S, Kc S, Chhetri PD, Pokhrel E, et al. Clinicopathological Profile of Dengue Infection in a Tertiary Care Centre in Nepal. *J Nepal Health Res Council*. 2023;20(4):859-867. doi: 10.33314/jnhrc.v20i4.4172. PMID: 37489668.
  33. Adesola RO, Ajibade FA, Idris I, Scott GY, Agaie MI. Addressing the Dengue fever challenges in Nigeria: A narrative review and recommendations for control. *Infez Med*. 2024; 32(2):157-167. doi: 10.53854/liim-3202-5. PMID: 38827833; PMCID: PMC11142414.
  34. Sinha S, Singh K, Ravi Kumar YS, Roy R, Phadnis S, Meena V, et al. Dengue virus pathogenesis and host molecular machineries. *J Biomed Sci*. 2024;31(1):43. doi: 10.1186/s12929-024-01030-9. PMID: 38649998; PMCID: PMC11036733.
  35. Véliz Castro TI, Valero Cedeño N, Dalgo Flores V, Cabrera Hernández M, Pinos Cedeño M, Duran Mojica A, et al. Nueva clasificación clínica de la infección por virus Dengue: ¿qué tan útil es en áreas endémicas? *Dom Cien*. 2019; 5(3): 3-26. doi: 10.23857/dc.v5i3.921
  36. Véliz Castro TI, Contreras Chirinos K, Duran Mojica AA, Pinos Cedeño MJ, Chasillacta Amores FB, Villamar González FJ. Complicaciones neurológicas asociadas a infección por virus dengue: una actualización. *Dom Cien*. 2019; 5(1): 774-791. doi: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v5i1.1083>
  37. Falconi-Agapito F, Kerkhof K, Merino X, Michiels J, Van Esbroeck M, Bartholomeeusen K, et al. Dynamics of the Magnitude, Breadth and Depth of the Antibody Response at Epitope Level Following Dengue Infection. *Front Immunol*. 2021; 12:686691. doi: 10.3389/fimmu.2021.686691. PMID: 34290707; PMCID: PMC8289389.
  38. Kabir MA, Zilouchian H, Younas MA, Asghar W. Dengue Detection: Advances in Diagnostic Tools from Conventional Technology to Point of Care. *Biosensors (Basel)*. 2021;11(7):206. doi: 10.3390/bios11070206. PMID: 34201849; PMCID: PMC8301808.

39. Ndiaye O, Woolston K, Gaye A, Loucoubar C, Cocozza M, Fall C, et al. Laboratory Evaluation and Field Testing of Dengue NS1 and IgM/IgG Rapid Diagnostic Tests in an Epidemic Context in Senegal. *Viruses*. 2023;15(4):904. doi: 10.3390/v15040904. PMID: 37112887; PMCID: PMC10143717.
40. Wongsawat E, Suputtamongkol Y, Assanasaen S, Silpasakorn S, Avirutnan P, Puttikhunt C, et al. Performance of a New Microfluidic Dengue NS1 Immuno-magnetic Agglutination Assay for the Rapid Diagnosis of Dengue Infection in Adults. *Am J Trop Med Hyg*. 2021;105(3):771-776. doi: 10.4269/ajtmh.20-1558. PMID: 34280136; PMCID: PMC8592323.
41. Low JG, Oh HM, Leo YS, Kalimuddin S, Wijaya L, Pang J, et al. IgG, IgM, and Nonstructural Protein 1 Response Profiles after Receipt of Tetravalent Dengue Vaccine TAK-003 in a Phase 2 Randomized Controlled Trial. *Am J Trop Med Hyg*. 2024;111(1):102-106. doi: 10.4269/ajtmh.23-0549. PMID: 38806045; PMCID: PMC11229647.
42. Hegde AV. Risk of Bleeding in Dengue: Making Predictions is Difficult Especially about the Future. *Indian J Crit Care Med*. 2023; 27(12):865-866. doi: 10.5005/jp-journals-10071-24618. PMID: 38074955; PMCID: PMC10701562.
43. Manterola C, Quiroz G, Salazar P, García N. Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2019; 30(1): 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2018.11.005>.
44. Asamblea Nacional del Ecuador. Ley Orgánica de Protección de Datos Personales. 2021. Disponible en: <https://www.telecomunicaciones.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/Ley-Organica-de-Datos-Personales.pdf>
45. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki. Principios Éticos para las Investigaciones Médicas en seres humanos. 2020. Disponible en <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
46. Kalra C, Mittal G, Gupta P, Agarwal RK, Ahmad S. Role of IgM/ IgG Ratio in Distinguishing Primary and Secondary Dengue Viral Infections: A Cross-Sectional Study. *Cureus*. 2024;16(8): e66714. doi: 10.7759/cureus.66714. PMID: 39262559; PMCID: PMC11390035.

47. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Manual: Gestión interna de los residuos y desechos generados en los establecimientos de salud. Quito. 2019. Disponible en: <https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/AC00036-2019.pdf>
48. Cherie TJJ, Choong CSH, Abid MB, Weber MW, Yap ES, Seneviratne SL, et al. Immunohaematologic Aspects of Dengue Infection: Biologic Insights and Clinical Implications. *Viruses*. 2024;16(7):1090. doi: 10.3390/v16071090. PMID: 39066252; PMCID: PMC11281699.
49. Copaja-Corzo C, Flores-Cohaila J, Tapia-Sequeiros G, Vilchez-Cornejo J, Hueda-Zavaleta M, Vilcarromero S, et al. Risk factors associated with dengue complications and death: A cohort study in Peru. *PLoS One*. 2024; 19(6):e0305689. doi: 10.1371/journal.pone.0305689. PMID: 38917093; PMCID: PMC11198833.
50. Sansone NMS, Boschiero MN, Marson FAL. Dengue outbreaks in Brazil and Latin America: the new and continuing challenges. *Int J Infect Dis*. 2024; 147:107192. doi: 10.1016/j.ijid.2024.107192. PMID: 39067668.
51. Haider N, Asaduzzaman M, Hasan MN, Rahman M, Sharif AR, Ashrafi SAA, et al. Bangladesh's 2023 Dengue outbreak - age/gender-related disparity in morbidity and mortality and geographic variability of epidemic burdens. *Int J Infect Dis*. 2023; 136:1-4. doi: 10.1016/j.ijid.2023.08.026. PMID: 37660728.
52. Vikhe VB, Khandol D, Faruqi AA, Reddy A. A Study on the clinical profile of patients presenting with dengue fever and the precision prediction of dengue severity using platelet count at presentation. *Cureus*. 2024;16(6): e63255. doi: 10.7759/cureus.63255. PMID: 39070501; PMCID: PMC11281968.
53. 53. Ministerio de Salud de Ecuador. Subsecretaria de Vigilancia, Prevención y Control de la Salud. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Enfermedades transmitidas por vectores. 2024. Boletín Semana Epidemiológica 1 a 21. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2024/06/Eventos-VECTORIALES-SE-21-.pdf>
54. Ministerio de Salud de la República Argentina, Dirección de Epidemiología. 2024. Boletín Epidemiológico Nacional N° 720, Semana Epidemiológica 35. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2024/04/ben\\_720\\_se\\_35.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2024/04/ben_720_se_35.pdf)

55. Katzelnick LC, Quentin E, Colston S, Ha TA, Andrade P, Eisenberg JNS, Ponce P, Coloma J, Cevallos V. Increasing transmission of dengue virus across ecologically diverse regions of Ecuador and associated risk factors. *PLoS Negl Trop Dis.* 2024;18(1):e0011408. doi: 10.1371/journal.pntd.0011408. PMID: 38295108; PMCID: PMC10861087.
56. Agrawal VK, Prusty BSK, Reddy CS, Mohan Reddy GK, Agrawal RK, Sekher Srinivasarao Bandaru VC. Clinical profile and predictors of Severe Dengue disease: A study from South India. *Caspian J Intern Med.* 2018 Fall;9(4):334-340. doi: 10.22088/cjim.9.4.334. PMID: 30510647; PMCID: PMC6230463.
57. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Características clínicas del dengue. 2024. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/es/hcp/clinical-signs/caracteristicas-clinicas-del-dengue.html>
58. Navas Castillo JS, Guzmán Torres M, Baldizón Pernillo DK, Orellana Pinto DF, Samayoa Bran A. Caracterización clínica de dengue con signos de alarma y dengue grave en adultos. Hospital Roosevelt, Guatemala. *Anfamed.* 2024; 11(2): e203. <https://doi.org/10.25184/anfamed2024v11n2a4>.
59. Thach TQ, Eisa HG, Hmeda AB, Faraj H, Thuan TM, Abdelrahman MM, et al. Predictive markers for the early prognosis of dengue severity: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15(10): e0009808. doi: 10.1371/journal.pntd.0009808. Erratum in: *PLoS Negl Trop Dis.* 2022;16(1): e0010164. doi: 10.1371/journal.pntd.0010164. PMID: 34610027; PMCID: PMC8519480.
60. Moallemi S, Lloyd AR, Rodrigo C. Early biomarkers for prediction of severe manifestations of dengue fever: a systematic review and a meta-analysis. *Sci Rep.* 2023;13(1):17485. doi: 10.1038/s41598-023-44559-9. PMID: 37838744; PMCID: PMC10576797.
61. Gohel VK, Gadhavi HM, Shingala HK, Jethva SD. A study on evaluation and correlation of serological methods and platelet count for diagnosis of dengue virus infection. *J Vector Borne Dis.* 2024. doi: 10.4103/JVBD.JVBD\_45\_23. PMID: 39113381.