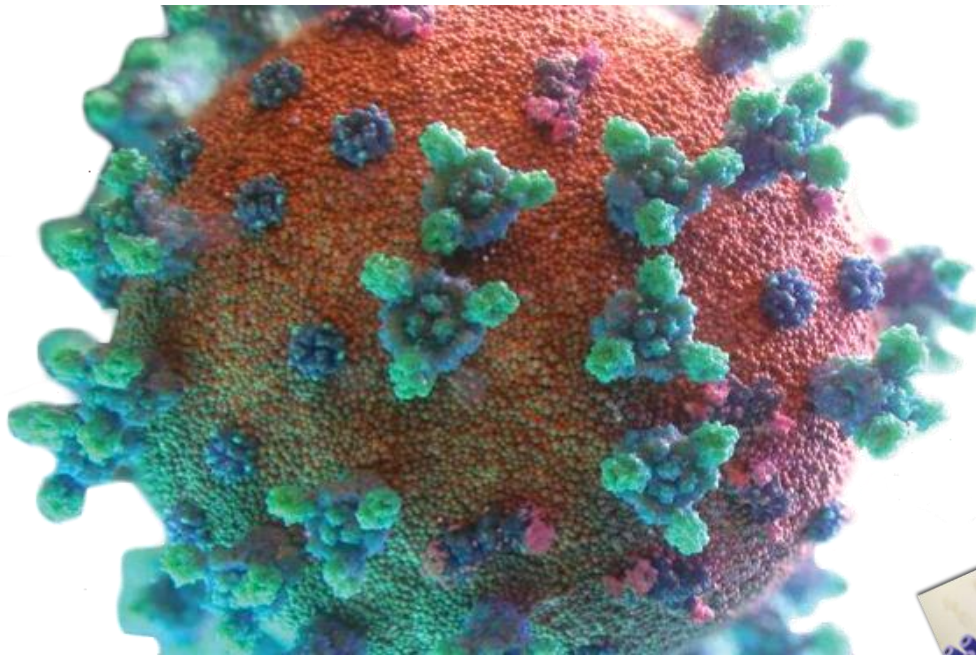


Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"
Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia
Departamento de Virología

Dinámica de detección del virus Oropouche en fluidos biológicos de pacientes atendidos en el Hospital del IPK, Julio – Agosto, 2024

Tesis para optar por el título de Máster en Virología



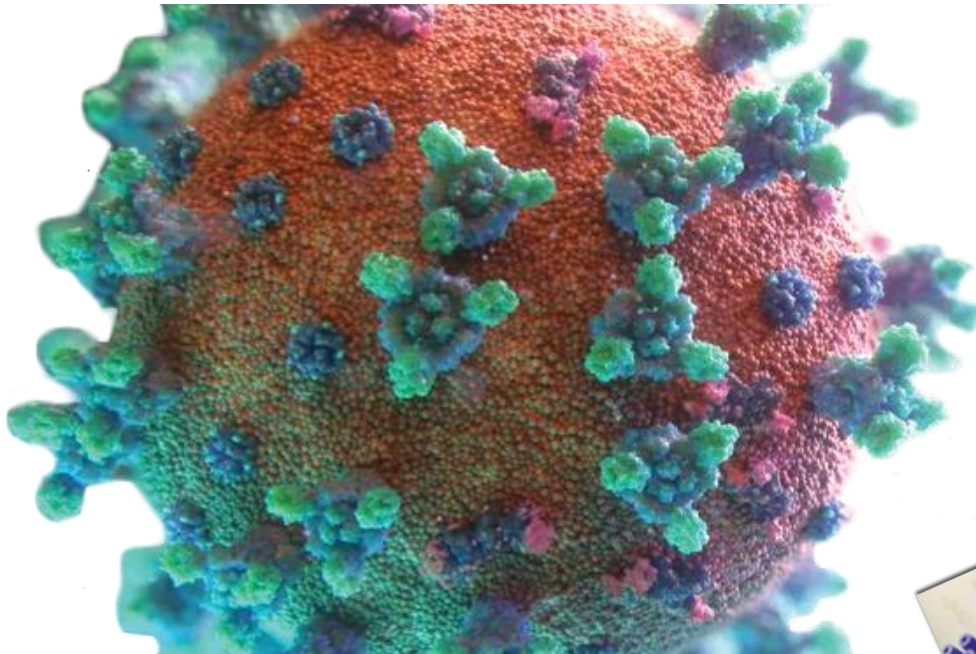
Autora: Lic. Ana Julia Benitez Fonseca.

La Habana, 2026

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri"
Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia
Departamento de Virología

Dinámica de detección del virus Oropouche en fluidos biológicos de pacientes atendidos en el Hospital del IPK, Julio – Agosto, 2024

Tesis para optar por el título de Máster en Virología



Autora: Lic. Ana Julia Benitez Fonseca

Tutor: Prof. Mayling Álvarez Vera, DrC.

Asesores:

Prof. María G. Guzmán Tirado, DrCs.

Lic. Rosario Gravier Hernández, MCs.

La Habana, 2026

Dedicatoria

A Dios

A mi familia

A mi madre quien es mi mayor motivación

Agradecimientos:

A Dios por permitirme completar esta importante etapa de mi vida profesional.

A mi mamá por ser mi mayor motivación, gracias por apoyarme, acompañarme y enseñarme a ser la mujer perseverante que soy.

A mi familia que, aunque muchas veces no me entienden, siempre me apoyan en todos mis procesos, en especial a mi prima Anniet quien ha estado a mi lado y me ha brindado la fuerza para seguir adelante cuando he tenido ganas de rendirme.

A mi mejor amiga Zeliany por aguantarme y estar ahí para mí incondicionalmente.

A mi tutora y asesoras Mayling, profe Lupe y Charito por guiarme, enseñarme y brindarme su ayuda en esta etapa de mi vida profesional.

A la Dra. Isbell Planett y a mis compañeros de maestría Melissa Fradera, Juan Carlos, Denelsys y Melissa María por acompañarme en este proceso.

A mis niños Isel, Enmanuel, Sheyla y a mis compañeros de Virología por mimarme, apoyarme y brindarme su compañía.

Al claustro de profesores de Virología que me guiaron en mi formación profesional, en especial a la profe Sonia por dedicarme su tiempo y a la profe Lissette por siempre confiar en mis capacidades.

RESUMEN

Introducción: La fiebre de Oropouche (FO) es una enfermedad zoonótica ocasionada por el virus Oropouche (VORO), el cual es considerado actualmente, un arbovirus emergente con alto potencial de propagación. El VORO se detectó por primera vez en Cuba en mayo del 2024 y, para el mes de julio del mismo año, se observó un incremento de pacientes con síndrome febril inespecífico, principalmente en las provincias La Habana y Artemisa donde aún no se reportaban casos de la infección. **Objetivos:** Confirmar la infección por VORO en los pacientes estudiados, caracterizar la clínica, los factores sociodemográficos y determinar la cinética de detección viral en muestras de suero, orina y saliva, así como en muestras seriadas de suero colectadas de pacientes con infección confirmada a VORO. **Materiales y Métodos:** Se presenta un estudio descriptivo de corte transversal que incluye todos los pacientes con sospecha clínica de FO que acudieron al Hospital del IPK entre julio y agosto de 2024. Se colectaron muestras de suero, orina y saliva de estos pacientes y se estudiaron mediante RT-PCR en tiempo real. **Resultados:** Se confirmó la circulación del VORO en las provincias La Habana y Artemisa. El suero mostró una positividad del 91,0% dentro de los primeros seis días de la FIS. La saliva presentó una positividad del 64,3% durante la fase aguda, mientras que la orina osciló entre el 73,3% y 100% en la convalecencia. **Conclusiones:** El suero demostró ser la muestra de elección para la detección del VORO en todas las etapas de la enfermedad, mientras que la saliva y la orina se pueden emplear como muestras alternativas que elevan la probabilidad diagnóstica y brindan una ventana mayor de detección viral.

Palabras claves: Oropouche; arbovirus; Cuba; cinética de detección.

LISTADO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

FO: fiebre de Oropouche	OPS: Organización Panamericana de la Salud
VORO: virus Oropouche	OMS: Organización Mundial de la Salud
S: segmento pequeño	RELDA: Red de Laboratorios de Arbovirus
M: segmento mediano	CDC: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
L: segmento grande	MINSAP: Ministerio de Salud Pública
IQTV: virus Iquitos	IPK: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”
MDDV: virus Madre de Dios	CIDR: Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia
PEDV: virus Perdões	LNR: Laboratorio Nacional de Referencia
VDEN: virus dengue	FDA: Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos
VDEN-1: virus dengue serotipo 1	PNE: proteína no estructural
VDEN-2: virus dengue serotipo 2	Acs: anticuerpos
VDEN-3: virus dengue serotipo 3	IgM: inmunoglobulina M
VDEN-4: virus dengue serotipo 4	IgG: inmunoglobulina G
VZIK: virus zika	SGB: Síndrome de Guillain Barré
VCHIK: virus chikungunya	SNC: Sistema Nervioso Central
VMAY: virus mayaro	LCR: Líquido Cefalorraquídeo
VNO: virus del Nilo Occidental	TNF-α: Factor de Necrosis Tumoral
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa	IFN-γ: interferón gamma
RT - PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa con retrotranscripción	HTA: Hipertensión arterial
qRT - PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real	AB: Asma bronquial
Ct: ciclo umbral	DM: Diabetes mellitus
RP: ribonucleasa P humana	
ARN: ácido ribonucleico	
FIS: Fecha de Inicio de los Síntomas	
FTM: Fecha de Toma de la Muestra clínica	
SFI: síndrome febril inespecífico	

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.I. OBJETIVOS.....	3
I.II. Novedad científica	3
II. MARCO TEÓRICO	4
II.I. Historia epidemiológica de la Fiebre de Oropouche	4
II.II. Clasificación taxonómica del VORO	6
II.III. Estructura viral y organización del genoma	7
II.III.I. Reordenamiento genómico.....	8
II.IV. Clasificación molecular y distribución geográfica de los genotipos	9
II.V. Epidemiología del VORO	10
II.V.I. Ciclo de transmisión	10
II.V.II. Reservorio	11
II.V.III. Vectores involucrados en la transmisión del VORO	11
II.V.IV. Periodo de incubación y transmisibilidad	13
II.V.V. Distribución geográfica de la FO	13
II.VI. Patogénesis causada por el VORO.....	14
II.VII. Manifestaciones clínicas.....	15
II.VIII. Diagnóstico Viroológico	16
II.VIII.I. Muestras clínicas.....	16
II.VIII.II. Procedimientos para el diagnóstico virológico.....	16
II.IX. Tratamiento	18
II.X. Prevención	18
II.XI. Fiebre de Oropouche en Cuba	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
III.I. Tipo de investigación y diseño de estudio	21
III.II. Definición del universo de estudio	21
III.III. Colección y almacenamiento de las muestras.....	21
III.IV. Colección, procesamiento y análisis de la información	21
III.V. Operacionalización de las variables	22
III.VI. Consideraciones éticas	25
III.VII. Técnicas y Procesamiento	26
III.VII.I. Extracción del ARN viral.....	26
III.VII.II. qRT-PCR para la detección de VORO	26

III.VI.III. qRT-PCR Trioplex para la detección del VDEN, VZIK y VCHIK...	28
III.VI.IV. qRT-PCR Multiplex de Dengue	30
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
IV.I. Incidencia de la infección por VORO en la población estudiada	33
IV.II. Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con infección confirmada a VORO	35
IV.III. Dinámica de detección del VORO en muestras de suero, orina y saliva de pacientes con infección confirmada	42
IV.IV. Dinámica de detección del VORO en muestras seriadas de suero colectadas en un mismo paciente con infección confirmada	47
IV.V. Discusión general.....	49
V. CONCLUSIONES	54
VI. RECOMENDACIONES.....	55
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
VIII. ANEXOS.....	73

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La fiebre de Oropouche (FO) es una enfermedad viral zoonótica ocasionada por el virus Oropouche (VORO), el cual constituye actualmente un arbovirus emergente con alto potencial de propagación (1). El VORO se trasmite a los humanos a través de la picadura de vectores infectados que se mantienen en la naturaleza a través de dos ciclos: un ciclo selvático donde el virus circula entre vertebrados salvajes, culícidos y ceratopogónicos y, un ciclo urbano, con los humanos como hospederos amplificadores y el *Culicoides paraensis* como el principal vector en la región de las Américas. El virus también puede ser transmitido por el *Culex quinquefasciatus* como un vector secundario (2).

El VORO se describió por primera vez en 1955 en la Vega de Oropouche, Trinidad y Tobago. Desde entonces se han notificado múltiples brotes de la infección en comunidades rurales y urbanas de Brasil, Ecuador, Panamá y Perú. En 1961 se describió el primer brote reportado de FO en Belem, Brasil, y en 1980, otro en el estado de Pará, con alrededor de 100 000 casos confirmados a la infección. En 1989 se reportó un brote en la localidad de Bejuco, al oeste de la Ciudad de Panamá, y en 1992 se detectó por primera vez en Iquitos, Perú. Posteriormente, en febrero de 2016, se identificó un brote mixto por virus dengue serotipo 2 (VDEN-2) y VORO en la región Madre de Dios, Perú, donde se notificaron 57 casos de FO, la mayoría localizados en ciudades al norte de la región de Cusco, en la selva amazónica (1-3).

El VORO pertenece a la familia *Peribunyaviridae*, género *Orthobunyavirus*, especie *oropoucheense* y forma parte del subclado filogenéticos A del serogrupo Simbu. Es un virus pequeño, esférico y envuelto. Presenta un genoma de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario de polaridad negativa, el cual se divide en tres segmentos denominados: segmento pequeño (S), segmento mediano (M) y segmento grande (L). El segmento S codifica la nucleocápside y una proteína no estructural (PNE), en marcos de lectura abiertos superpuestos. El segmento M codifica las glicoproteínas Gn y Gc, una PNE y es el responsable, en gran medida, de las diferentes capacidades patogénicas del virus, y el segmento L codifica la polimerasa viral. Estudios realizados con el segmento S del virus diferencian cuatro genotipos (I, II, III y IV) (3-5). Debido a la naturaleza segmentada de su genoma, el VORO está

sujeto a reordenamiento genómico, un fenómeno importante que genera diversidad viral dentro de la especie *Orthobunyavirus oropoucheense* (6). En las Américas, se identifican tres reordenamientos del VORO: el virus Iquitos (IQTV), el virus Madre de Dios (MDDV) y el virus Perdões (PEDV) (7).

El VORO presenta un período de incubación en el hombre que oscila entre cuatro a ocho días. El cuadro clínico es similar al de otras arbovirosis como Dengue, Zika y Chikungunya; y se caracteriza por fiebre autolimitante, mialgias, artralgias, cefalea, vómitos, diarreas, fotofobia y erupciones cutáneas. Se pueden presentar manifestaciones hemorrágicas menores como petequias, epixtasis y sangrado gingival. En casos excepcionales pueden aparecer signos y síntomas neurológicos. Generalmente, el plazo resolutorio de la enfermedad es de dos a tres semanas (5, 8). La FO puede presentar un curso bifásico: con recurrencia de la fiebre luego de una fase aguda de dos a cuatro días, los síntomas reaparecen siete a diez días después (9). Se reporta su relación con el Síndrome de Guillain Barré (SGB) (10) y se registran casos de transmisión vertical. Además el virus se asocia con microcefalia en recién nacidos, hijos de madres infectadas (11).

Se diagnostica mediante pruebas de laboratorio en la fase febril aguda (hasta los siete días de iniciados los síntomas) y para ello se emplean tres criterios diagnósticos: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) positiva, la identificación de inmunoglobulina M (IgM) específica o la detección de seroconversión de anticuerpos (Acs) en sueros pareados (12). Actualmente no se dispone de vacunas ni tratamiento antiviral específico para prevenir o tratar la infección por VORO. El tratamiento consiste en medidas generales como aislamiento, adecuada protección del paciente, reposo y antipiréticos. La prevención está encaminada al control y erradicación de criaderos del vector en la comunidad (13).

En febrero de 2024, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) emitió una alerta epidemiológica debido al incremento de casos de FO y su rápida expansión en Brasil, Bolivia, Colombia y Perú (14). En mayo de 2024, el Ministerio de Salud Pública (MINSAP) de Cuba notificó los primeros casos confirmados de FO en el país. Estos casos se reportaron en las provincias de Santiago de Cuba y Cienfuegos, donde se observó un aumento de pacientes con síndrome febril inespecífico (SFI), la mayoría negativos para IgM dengue.

Se confirmó un total de 74 casos distribuidos en estas dos provincias y siete municipios (15). En junio de 2024 en conferencia de prensa el Dr. Francisco Durán, Director Nacional de Epidemiología del MINSAP, reportó la transmisión del VORO en nueve provincias y 23 municipios de Cuba, sin detectarse casos aún en las provincias La Habana y Artemisa (16).

A inicios de julio de 2024 se observó un marcado incremento de pacientes con SFI principalmente en las provincias La Habana y Artemisa que acudieron a las instalaciones de urgencia del IPK. De acuerdo con el contexto epidemiológico en el país, se planteó desarrollar esta investigación para dar respuesta a la siguiente incógnita: ¿Cuál es la dinámica de detección del VORO en diferentes fluidos biológicos de pacientes atendidos en el Hospital del IPK, entre julio y agosto de 2024?

I.I. OBJETIVOS

Objetivo General: Describir la dinámica de detección del VORO en fluidos biológicos de pacientes atendidos en el Hospital del IPK, Julio - Agosto, 2024.

Objetivos específicos

1. Confirmar la infección por VORO en pacientes clínicamente sospechosos de FO.
2. Caracterizar los aspectos sociodemográficos y clínicos de los pacientes con infección confirmada a VORO.
3. Determinar la cinética de detección viral en muestras de suero, orina y saliva de pacientes con infección confirmada, incluyendo muestras de suero colectadas de un mismo paciente.

I.II. Novedad científica

- ✓ Los resultados del estudio impactan en el conocimiento de la FO, su clínica, epidemiología, diagnóstico y dinámica de detección viral.
- ✓ Existen pocos estudios de cinética de detección del VORO en muestras de orina y saliva; los resultados de esta investigación confirman la presencia del genoma del virus en estos fluidos biológicos.
- ✓ Este es posiblemente el estudio con un mayor número de muestras de suero, orina y saliva colectadas en el tiempo en pacientes con infección confirmada a VORO, lo que fortalece el algoritmo diagnóstico y amplía la posibilidad de realizar estudios de patogenia y transmisión viral.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

II. MARCO TEÓRICO

II.I. Historia epidemiológica de la Fiebre de Oropouche

El primer caso documentado de la FO fue descrito en el año 1955 en la ciudad de la Vega de Oropouche, Trinidad y Tobago. Se trató de un joven de 24 años de origen indio, trabajador forestal que presentó fiebre acompañada de dolor de espalda y tos. El virus aislado de este paciente se inoculó por vía intracerebral e intraperitoneal en ratones lactantes, cobayos y hámsters adultos, en los cuales se evidenció parálisis y muerte. Además, se detectaron Acs neutralizantes en varios trabajadores forestales de la región y en poblaciones locales de monos (17).

En 1960 se aisló el VORO de un perezoso de tres dedos (*Bradypus tridactylus*) y en un grupo de mosquitos *Aedes serratus* (*Ochlerotatus*) en el este de Brasil. En 1961 se originó una epidemia en la ciudad de Belém, Brasil, donde se tomó como posible causa la construcción de la autopista Belém-Brasilia, la cual facilitó la movilidad de las personas. Esta ciudad se sitúa en el estado más poblado de Pará, el cual es conocido por sus selvas tropicales y el río Amazonas. Este se considera el primer brote de FO en Brasil, y se notificaron aproximadamente 11 000 casos sospechosos de la enfermedad (18). Entre 1961 y 1980 se notificaron varios brotes explosivos de FO en asentamientos urbanos del estado de Pará, donde en el brote ocurrido en 1980 se estima que se originaron más de 100 000 contagios en humanos. Entre 1981 y 2004, el VORO se propagó a otros cinco estados del norte de Brasil (Amazonas, Amapá, Acre, Rondônia y Tocantins) y a un estado del nordeste (Maranhão), con casos esporádicos y brotes autolimitados principalmente en pequeñas aldeas, lo que indicó una posible circulación silenciosa del virus, así como su elevado potencial epidémico. Además, el VORO se aisló por primera vez en especies de monos del sudeste del país, lo cual demostró la elevada capacidad del mismo para propagarse a nuevas áreas y hospederos (19).

Durante varias décadas los brotes de la enfermedad se limitaron a la región amazónica de Brasil. Sin embargo, el rango documentado del virus se amplió cuando se diagnosticaron los primeros casos en Panamá en 1989, en las localidades de Bejuco, Chilibre y San Miguelito. En Perú, el virus se detectó por

primera vez en 1992, en Iquitos, a partir de una encuesta seroepidemiológica realizada después de un brote de dengue. En dicha región, el VORO se aisló de cinco pacientes febriles sin antecedentes de viajes a otras áreas. Desde entonces se detectan continuamente casos de la enfermedad y se sugiere que el virus llegó al país al propagarse a través de las riberas del río Amazonas facilitado por la movilización humana. Un estudio realizado en la ciudad de Santa Clara, a 10 km de Iquitos, reportó que visitar áreas forestales era un factor de riesgo para la exposición y propuso la endemidad del VORO en dicho país, debido principalmente a la mayor prevalencia de Acs contra el mismo en residentes locales en comparación con los inmigrantes.

En 1994 se reportó un brote en Puerto Maldonado del Departamento de Madre de Dios al sureste de Perú, aunque sin mayor información al respecto, y en los años 2010 y 2011 se detectaron casos al norte de los departamentos de San Martín y Cajamarca (20, 21). En febrero de 2016, una misión de campo en la región de Madre de Dios realizada conjuntamente por el Ministerio de Salud del Perú y la OPS/OMS, reveló un brote mixto de VDENV-2 y VORO. Este brote, comparado con el ocurrido en dicha región en 1994, tuvo una mayor magnitud con aproximadamente 120 casos confirmados, la mayoría de ellos en ciudades localizadas en el norte de la región de Cusco, en la selva amazónica. No se registraron fallecidos y todos los pacientes se recuperaron tras recibir tratamiento sintomático (22).

Estudios serológicos realizados en humanos y mamíferos salvajes también encontraron Acs contra el VORO en Ecuador, Bolivia, Paraguay, Argentina y Colombia. Una encuesta multinacional para el diagnóstico de casos de enfermedades febriles agudas de origen desconocido desarrollada entre 2000 y 2007 confirmó el virus en casos humanos en Ecuador, Bolivia y Paraguay, aunque no se pudo identificar el origen de la infección (23). Al mismo tiempo, entre 2000 y 2004, Ecuador informó la detección del virus en pacientes que acudieron a centros de salud de la provincia amazónica de Puyo (24). En Argentina, en 2005 se notificaron casos febriles confirmados a VORO en Jujuy, mientras que en Colombia, el virus se detectó en primates no humanos provenientes de diferentes regiones (25, 26).

La amplia distribución del vector primario, junto con las perturbaciones ambientales antropogénicas y los amplios viajes, acentúan la posibilidad de

que el VORO emerja en otros territorios. En 2020 una aldea remota de la selva tropical en la Guayana Francesa fue testigo de un brote de un síndrome similar al dengue. De los 41 pacientes con sospecha clínica estudiados, 28 resultaron positivo al VORO por PCR (27).

A mediados del 2024 se comenzó a detectar la infección en áreas geográficas donde no se reportaba circulación en años anteriores. En mayo de 2024, el MINSAP de Cuba notificó los primeros casos confirmados de FO en el país (16). En agosto, el MINSAP de República Dominicana confirmó la detección del VORO en muestras almacenadas en la seroteca del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) Dr. Defilló las cuales resultaron negativo a VDENV. Este hallazgo evidenció la circulación silenciosa del virus en el país y aunque no se reportaron casos activos, se precisó en la necesidad de intensificar la vigilancia para la detección temprana de casos (28). A finales de 2024, se reportó un brote pequeño de VORO en Panamá, donde para enero de 2025 se confirmaron aproximadamente 153 casos positivos a la infección, la mayoría teniendo como zona de contagio a la región del Darién (29).

II.II. Clasificación taxonómica del VORO

El VORO pertenece al orden *Bunyavirales*, familia *Peribunyaviridae*, género *Orthobunyavirus*, especie *oropoucheense* y forma parte del serogrupo *Simbu* (30). La familia *Peribunyaviridae* actualmente agrupa a más de 350 especies clasificadas en cinco géneros según sus propiedades morfológicas, antigénicas y moleculares (31). El género *Orthobunyavirus* comprende 170 virus, que se agrupan en 48 especies y 19 serogrupos reconocidos (32). El serogrupo *Simbu* es el más importante desde el punto de vista clínico y epidemiológico. Este serogrupo comprende 25 virus antigénicamente relacionados divididos en dos subclados filogenéticos: subclado A que incluye los virus Manzanilla y Oropouche y, subclado B integrado por los virus Simbu, Akabane, Sathuperi, Shamonda y Shuni. El complejo Oropouche es el único que incluye especies que afectan a los humanos y está integrado por los virus Oropouche, Jatobal, Iquitos, Leanyer, Oya y Thimiri (33).

II.III. Estructura viral y organización del genoma

El VORO es un virus esférico y envuelto con un tamaño de 80 a 120 nm de diámetro. Su genoma consta de tres segmentos de ARN monocatenario de sentido negativo, cada uno de ellos designados en función de su tamaño molecular como S, M y L. El segmento S codifica la proteína estructural (N) y la proteína no estructural (NSs). La proteína N interactúa con el ARN viral y forma tres complejos de ribonucleoproteína que modelan la nucleocápside y mantienen la integridad del genoma viral. La proteína NS cumple múltiples funciones en el ciclo de replicación viral y es uno de los principales factores de virulencia del virus, al contrarrestar la respuesta antiviral del hospedero favoreciendo su replicación (34). El segmento M codifica para una poliproteína que se escinde postraduccionalmente en las glicoproteínas virales Gn y Gc y una proteína no estructural (NSm). Las glicoproteínas Gn y Gc forman un complejo de puntas triméricas que sobresalen de la envoltura viral y median la entrada, el ensamblaje y liberación del virus desde las células hospedera. El segmento L codifica para su propia ARN polimerasa, una enzima crucial para la replicación del genoma viral que se asocia a los complejos de ribonucleoproteínas.

Además, cada segmento genómico se encuentra flanqueado por dos regiones no codificantes, con aproximadamente 11 nucleótidos altamente conservados y complementarios entre sí, lo que permite la formación de una estructura "panhandle: protrusión elongada" que funciona como promotor tanto para la transcripción como para la replicación de cada segmento. Estas regiones no codificantes, a su vez, son indispensables para la encapsidación del ARN genómico por la proteína N y el empaquetamiento de las partículas virales (31, 34).

El S es el segmento de ARN más conservado de los *Orthobunyavirus* y debido a esta propiedad, se utiliza en gran medida para la reconstrucción filogenética del virus (35). Además, es el segmento más empleado en el desarrollo de técnicas moleculares que permiten la detección del VORO (36).

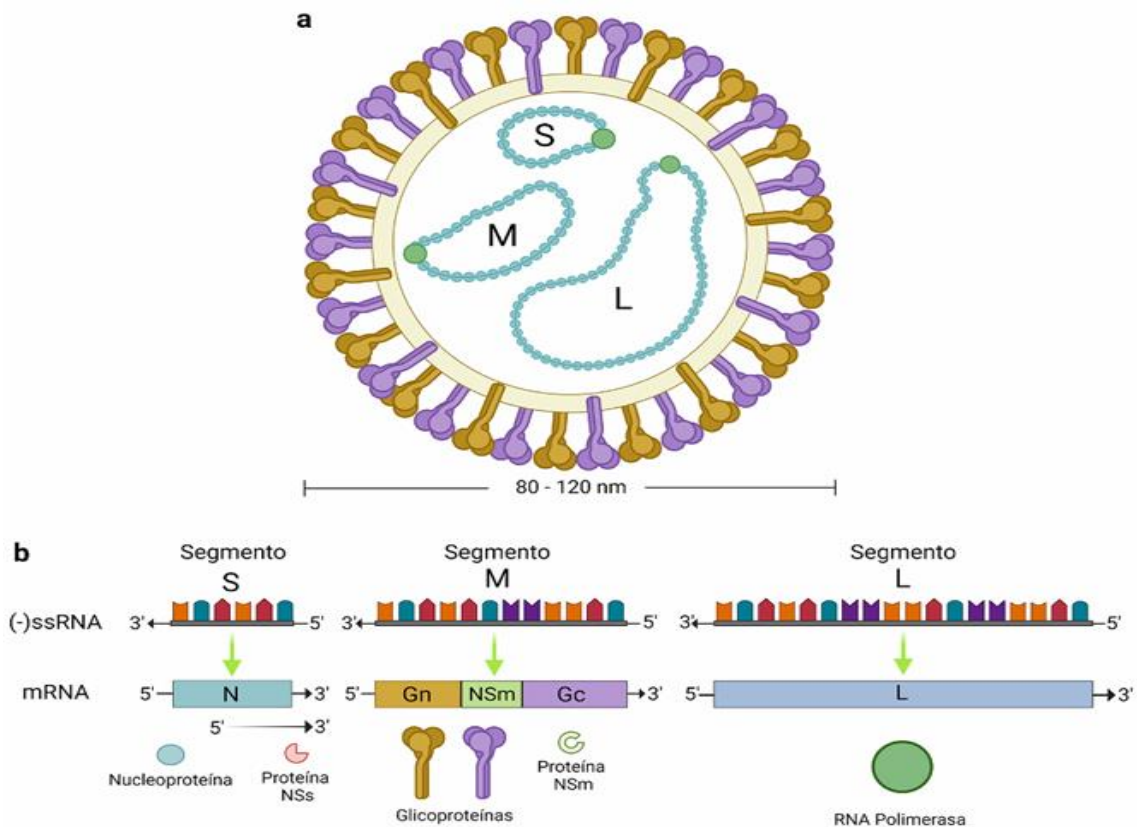


Figura 1. a) Representación gráfica de la estructura del VORO. **b)** Representación gráfica del genoma del VORO (34).

II.III.I. Reordenamiento genómico

El genoma segmentado del VORO aumenta la probabilidad de procesos de recombinación o reordenamiento genético. El reordenamiento genómico es considerado uno de los mecanismos más importantes en la generación de biodiversidad viral en los *Orthobunyavirus*. Este fenómeno puede ocurrir cuando dos virus genéticamente relacionados infectan simultáneamente la misma célula susceptible y, la progenie viral puede formarse con una mezcla variada de segmentos genómicos S, M y L de los dos virus parentales. Este fenómeno es común en los virus segmentados y puede tener implicaciones significativas, debido a la posibilidad de aparición de un virus con propiedades biológicas alteradas y una mayor transmisibilidad y patogenicidad (27, 31, 34). Se reportan reordenamientos genómicos que involucran a los *Orthobunyavirus* en Perú, Venezuela y Brasil. El primer evento se reportó en Perú, en 1999 cuando se aisló el IQTV de un paciente febril (37). En 2007 se identificó también en Perú, la presencia de otro reordenamiento del VORO asociado con

enfermedades en humanos denominado MDDV (38). Además, se reportó el MDDV en un mono (*Cebus olivaceus Schomburgk*), en un bosque cerca de Atapirire, una pequeña aldea rural ubicada en el estado de Anzoátegui, Venezuela (39). En 2015, Lunel y colaboradores (cols.) describieron la presencia del PERDV, aislado de las vísceras de un primate no humano (*Callithrix sp.*) encontrado muerto en el estado de Minas Gerais, Brasil (40).

Hasta el momento, se identifican al IQTV, MDDV y PERDV como los únicos reordenamientos en el género *Orthobunyavirus*. Estos virus contienen los segmentos S y L del VORO y el segmento M de un virus desconocido. Se ha sugerido que la diversidad genética del segmento M puede estar sujeto a mutaciones debido a la influencia en la presión selectiva sobre las glicoproteínas Gn y Gc al ser importantes determinantes antigénicos de la respuesta inmune mediada por Acs (7, 34).

II.IV. Clasificación molecular y distribución geográfica de los genotipos

Estudios realizados empleando la secuencia nucleotídica del gen de la nucleocápside y el segmento S del VORO, describen la presencia de los genotipos I, II, III, IV circulantes en la región de Las Américas (4).

El primer estudio genético realizado a VORO fue descrito en el año 2000 por Saeed y cols., quienes sugirieron la existencia de al menos tres linajes genéticos distintos circulantes en las Américas: genotipos I, II y III, basados en la secuencia nucleotídica del gen N de 28 cepas de VORO aisladas de diferentes hospederos, en diferentes zonas geográficas y diferentes períodos de tiempo. El genotipo I se detectó en Trinidad y Tobago y Brasil, el genotipo II se limitó a Perú y Brasil y el genotipo III se encontró en Panamá. En Brasil, el genotipo I se encontró con mayor frecuencia en la Amazonía oriental, mientras que el II en la región amazónica occidental (41).

Posteriormente en un estudio realizado por Da Rosa en 2017, se observó la aparición de un cuarto genotipo (IV), basado en información obtenida de datos genéticos del segmento S durante un brote en Manaus, Brasil, en la década de los ochenta. Por lo tanto, con base en 111 secuencias codificantes completas del segmento S, fue posible clasificar al VORO en cuatro genotipos y ocho subgenotipos (4, 41).

Actualmente se describe circulando del genotipo I (más prevalente) en Trinidad y Tobago y Brasil; genotipo II en Panamá, Perú y Brasil (particularmente en el Este amazónico); genotipo III en Brasil y Perú (más frecuentemente en el Oeste amazónico), mientras que el genotipo IV fue aislado únicamente en Brasil (42).

II.V. Epidemiología del VORO

II.V.I. Ciclo de transmisión

El VORO es un virus zoonótico transmitido por la picadura de vectores infectados que se mantiene en la naturaleza a través de dos ciclos: uno urbano o enzoótico y otro selvático o zoonótico (43). En el ciclo urbano, los humanos son los principales hospederos vertebrados y los jejenes de la especie *Culicoides paraensis* se identifican como el principal vector (44, 45). Además, se considera al *Culex quinquefasciatus* como un vector antropofílico urbano secundario, que también puede contribuir a la transmisión viral (46). En el ciclo selvático, aún no se identifican completamente los reservorios virales, aunque existen evidencias de la presencia de Acs contra el VORO en aves silvestres, mamíferos como los perezosos, algunos primates no humanos y roedores que participan como hospederos amplificadores (34, 47).

Se cree que los humanos actúan como un vínculo entre los dos ciclos virales, los cuales permiten que el VORO se propague de las zonas selváticas hacia las áreas urbanas. Esto ocurre cuando un individuo visita una zona selvática, contrae la infección y regresa a un área urbana durante la fase virémica. La bibliografía disponible sugiere que factores como el cambio climático que conduce al incremento de las precipitaciones y el aumento de las temperaturas; la alteración de los hábitats naturales por procesos como la deforestación y el aumento de la urbanización, facilita la propagación del virus lo que contribuye a que se produzcan brotes urbanos (34, 48).

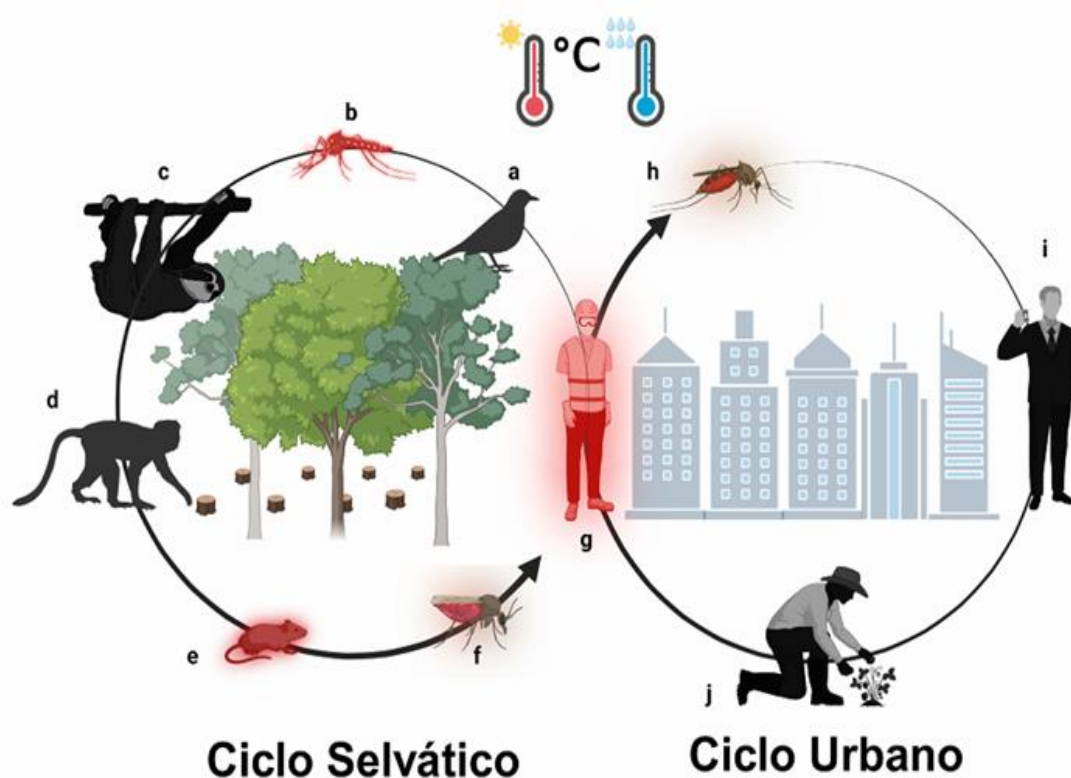


Figura 2. Representación del ciclo de vida del VORO (34).

II.V.II. Reservorio

En el ciclo urbano, los humanos son los principales reservorios del VORO, mientras que los mamíferos y las aves silvestres actúan como reservorios naturales del virus en el ciclo silvestre. En las aves, se reporta la presencia de Acs en miembros de las familias *Formicariidae*, *Fringillidae*, *Thaurapidae* y *Columbidae*, y el papel de estas en la perpetuación y dispersión del virus aún se encuentra en investigación (21).

II.V.III. Vectores involucrados en la transmisión del VORO

Culicoides paraensis

El *Culicoides paraensis* se identifica como el principal vector del VORO. Esto es respaldado por ensayos de laboratorio que demuestran la elevada capacidad infectiva de estos jejenes al transmitir el virus a roedores entre seis a 12 días después de alimentarse con sangre de pacientes virémicos (44, 49). *C. paraensis*, es un género de dípteros nematóceros de la familia *Ceratopogonidae* conocidos popularmente como jejenes hematófagos (1). Son insectos de diminuto tamaño (2,5 mm) y presentan una picadura intensa y

molesta (50). Es el insecto diurno más común que pica al hombre en las áreas urbanas. Son activos durante la mañana y al final de la tarde, con una actividad máxima de picadura entre las 17:00 y las 18:00 horas. Habitan principalmente en el medio exterior (exofílico), pero se alimentan tanto fuera como dentro de las viviendas lo que facilita su interacción con los humanos.

Se identifican poblaciones de *C. paraensis* en áreas tropicales y subtropicales en todo el continente americano. Su amplia distribución y alta adaptabilidad a los cambios climáticos, sugiere el potencial del mismo para la propagación de la FO, facilitada por el aumento del movimiento humano (51, 52). Además, la eficiencia de transmisión del virus, por este vector, está relacionada con la asociación del jején a entornos artificiales dado a su preferencia por reproducirse en los desechos de las plantas de banano que son cultivados comúnmente en los centros urbanos, debido al alto contenido de materia orgánica y elevada humedad que presentan (53).

Culex quinquefasciatus

El *Culex quinquefasciatus* también es propuesto como un vector competente en la transmisión del VORO (54). Pertenecce al complejo de especies *Culex pipiens*, de distribución global (55). Habitan en regiones tropicales y subtropicales, donde abunda principalmente en América, África, Medio y Lejano Oriente, sur de Asia, Nueva Guinea, Australia y el sur de los Estados Unidos. Es considerado una especie acentuadamente antropofílica que constituye un factor de riesgo para la población urbana, debido a su resistencia a los insecticidas, capacidad vectorial y las elevadas densidades que puede alcanzar (56).

Durante un brote de SFI entre 2011 y 2012, en Brasil, se detectó el VORO en 287 grupos de *Cx. quinquefasciatus* capturados en el área lo cual se confirmó al realizar un estudio de laboratorio infectando hámsteres sanos a partir de mosquitos expuestos a hámsteres infectados con el virus. Este hallazgo demostró el papel potencial del *Cx. quinquefasciatus* en la epidemiología del VORO y la posibilidad de dispersión del virus, por este vector, a nuevas áreas geográficas como África, Australia o el Sudeste Asiático donde existe una alta prevalencia del mosquito (57).

Otras especies de mosquitos

Las especies de mosquitos *Coquilletidia venezuelensis*, *Aedes serratus* y *Culicoides* spp se proponen como vectores del ciclo selvático del VORO, principalmente en Trinidad y Brasil. Sin embargo, su papel como vectores competentes requiere más investigación (48).

II.V.IV. Periodo de incubación y transmisibilidad

El período de incubación en el hombre oscila de cuatro a ocho días aproximadamente (5). El virus se transmite principalmente a través de vectores infectados. No obstante, se notificaron infecciones accidentales transmitidas por el aire en condiciones de laboratorio (44). No se transmite de persona a persona, aunque en 2024 se informaron casos de transmisión vertical en embarazadas durante un brote en Brasil (42).

II.V.V. Distribución geográfica de la FO

La FO es una enfermedad tropical circulante en la región de las Américas con una mayor incidencia en el centro y sur del continente americano (58). Se considera una enfermedad desatendida que afecta a más 500.000 personas principalmente en Brasil; sin embargo, el número de casos y la distribución exacta de la enfermedad no se conocen (26, 59).

El conocimiento actual de la distribución del VORO se ha basado en la vigilancia epidemiológica pasiva, es decir, encuestas poblacionales y colecta de muestras para la detección de casos (60, 61). Por otra parte, la vigilancia activa revela una circulación viral inadvertida hasta del 2% en las personas que viven en áreas no endémicas mostrando Acs contra el virus.

En América del Sur, los esfuerzos para rastrear la distribución del VORO a través de la vigilancia epidemiológica pasiva o activa en mamíferos salvajes y humanos muestran una circulación viral en Brasil, Perú, Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador y Venezuela, principalmente en áreas rurales o zonas amazónicas. En Centroamérica se reportan casos en Panamá y, en la región del Caribe, se reporta la infección en Cuba y República Dominicana (21). En 2024 se notificaron casos en la Unión Europea, en países como España (21 casos), Italia (6 casos) y Alemania (3 casos), todos ellos importados y con antecedentes de viajes recientes a países con circulación viral activa (14).

Los brotes de FO podrían tener un patrón estacional, y la mayoría de los eventos ocurren durante las estaciones lluviosas (26). La prevalencia en el género humano ha sido contradictoria, ya que algunos estudios sugieren una prevalencia más alta en hombres y otros en mujeres (54, 62). De manera similar, los grupos de edad afectados no tienen un patrón claro, con informes que sugieren una incidencia más elevada en poblaciones más jóvenes y otros en poblaciones mayores (60, 63).

II.VI. Patogénesis causada por el VORO

El VORO provoca una infección sistémica y una respuesta inflamatoria que, en casos graves, puede afectar el Sistema Nervioso Central (SNC) y permitir la detección del genoma del virus en el líquido cefalorraquídeo (LCR). El virus es altamente detectable en la sangre desde el inicio de la infección y puede llegar progresivamente a las rutas neuronales (64). Se demostró que el VORO puede infectar a animales de experimentación, en particular ratones y hámsteres cuando se administra por vía intracerebral, por lo que estudios experimentales en diversos modelos animales contribuyen de manera significativa a la comprensión de la patogenia de este virus, al demostrar su afinidad por las células del sistema nervioso, hígado y bazo (34, 65).

En hámsters dorados (*Mesocricetus auratus*), la inoculación subcutánea con el VORO provocó una enfermedad sistémica similar a la observada en humanos. Se detectaron títulos elevados del virus en sangre, hígado y cerebro, y la histopatología reveló meningoencefalitis con activación de las microglías y hepatitis con afectación de las células de Kupffer (66). En ratones BALB/c recién nacidos, la infección mediante inoculación subcutánea del virus resultó en el establecimiento de una enfermedad grave, con una marcada acumulación viral en las neuronas y la médula espinal, acompañada de activación de células gliales y apoptosis neuronal. Además, se observó hiperplasia esplénica, aunque no se detectaron virus viables en el órgano (67). En otro ensayo con ratones BALB/c, la infección por el VORO provocó esplenomegalia e inflamación hepática con aumento de transaminasas, detectando el genoma viral en ambos órganos. También, se reportó un aumento en los niveles séricos de las citoquinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interferón gamma (IFN- γ) (68). Por otra parte, se ha reportado la capacidad del

VORO de infectar células neuronales humanas *ex vivo*, evidenciado en ensayos realizados con cultivos de cortes de cerebros humanos adultos. Esta infección desencadenó una respuesta inflamatoria caracterizada por la liberación de la citoquina TNF- α y daño tisular, lo que condujo a la disminución de la viabilidad celular (69).

El mecanismo preciso mediante el cual el VORO atraviesa la barrera hematoencefálica aún no está completamente establecido. Se postula que el virus utiliza un mecanismo tipo "caballo de Troya", al ser transportado por el torrente sanguíneo dentro de fagocitos infectados, pasar inadvertido y evadir la respuesta inmune del hospedero, hasta llegar a los órganos diana. Sin embargo, también puede estar involucrada una ruta neuronal de invasión cerebral debido a la acumulación viral dentro de las neuronas, aunque este mecanismo aún no se confirma (33, 42, 65).

II.VII. Manifestaciones clínicas

La enfermedad generalmente se manifiesta en dos etapas. La primera se caracteriza por una fase aguda que suele durar de dos a siete días en pacientes sin afecciones graves. La segunda es una etapa de remisión donde pueden reaparecer los síntomas entre siete y diez días después del inicio de la enfermedad. El cuadro clínico es similar al de otras arbovirosis como Dengue, Zika, Chikungunya y Mayaro por lo cual resulta difícil de distinguir. La enfermedad se caracteriza por fiebre (aproximadamente 39 °C) que se puede acompañar de cefalea, dolor retro-orbital, fotofobia, malestar general, mialgias, artralgias, náuseas, vómito y diarreas. En menor frecuencia se presentan síntomas como erupción cutánea comúnmente en tronco y brazos, así como, manifestaciones hemorrágicas menores como sangrado gingival, epistaxis y petequias (7, 30, 34).

La mayoría de los pacientes sintomáticos se recuperan espontáneamente en una semana, aunque aproximadamente el 60 % de los mismos presentan recaídas entre las dos semanas posteriores a la recuperación, con un cuadro sintomático similar al de la infección inicial, sin embargo, en ocasiones se describe como más grave. Existen algunas teorías sobre los procesos que conducen a la recurrencia de la enfermedad, pero se asume que la misma puede deberse a varios factores como: las características del virus ya que tiene

la capacidad de mutar y adaptarse; factores individuales del hospedero como respuesta inmune y, una elevada exposición a vectores portadores del virus que puede conllevar a coinfecciones que facilitan la reactivación viral. En algunos pacientes puede desarrollarse un cuadro grave con afectación del SNC y experimentar meningitis aséptica o meningoencefalitis con rigidez de nuca, letargo, diplopía y nistagmo. La meningitis aséptica suele tener buen pronóstico, sin secuelas (34, 70).

A partir del 2024 se reporta el SGB como una de las complicaciones clínicas en la infección por VORO (71). También se registran casos de transmisión vertical y se asocia a anomalías congénitas como microcefalia, ventriculomegalia, agenesia del cuerpo calloso, malformaciones articulares, así como, muerte fetal. Estudios evidencian que existe un mayor riesgo durante el primer trimestre del embarazo (72). Además, en este mismo año se reportaron las primeras muertes por la enfermedad lo cual puede sugerir una posible transformación del virus capaz de agravar los síntomas (73).

II.VIII. Diagnóstico Viroológico

II.VIII.I. Muestras clínicas

Las muestras recomendadas para el diagnóstico de la FO son suero y plasma. Se describe que el suero colectado entre el primer y quinto día de la fecha de inicio de los síntomas (FIS) es la muestra ideal para la identificación y aislamiento del VORO (27, 74). También se pueden utilizar muestras de saliva y orina. En pacientes con síndrome neurológico infeccioso, se recomienda emplear el LCR (75, 76). En casos de transmisión vertical se pueden utilizar otras muestras y tejidos como sangre del cordón umbilical, cordón umbilical, placenta, suero del recién nacido y líquido amniótico. En casos fatales se sugiere analizar órganos como cerebro, hígado, bazo y riñón (77). Algunos estudios reportan la detección del genoma del VORO en el semen (78).

II.VIII.II. Procedimientos para el diagnóstico virológico

El diagnóstico clínico de la FO presenta desafíos debido a la naturaleza inespecífica de sus síntomas que pueden a menudo confundirse con el cuadro clínico provocado por otras arbovirosis endémicas en las Américas. Además, los análisis de sangre convencionales generalmente no son concluyentes ni

específicos para detectar la infección (34). Actualmente, existen diversas técnicas diagnósticas para la detección viral.

Los laboratorios suelen emplear tres criterios claves para confirmar la infección, entre ellos: un resultado positivo de PCR, la seroconversión de Acs utilizando sueros pareados (colectados en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad) y la identificación de Acs IgM específicos (79). La OPS recomienda estas técnicas para la confirmación del VORO y el seguimiento de la infección (6).

Diagnóstico molecular

La detección molecular mediante PCR se realiza durante la fase aguda de la enfermedad, cuando la concentración viral en sangre es más elevada (80, 81). La mayoría de estos ensayos se dirigen a la detección del segmento S del virus al ser una región altamente conservada, sin embargo, no permiten distinguir los posibles reordenamientos que puedan ocurrir en la especie *Orthobunyavirus oropoucheense*. Para el diagnóstico temprano se recomienda la RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR) debido a su facilidad, rapidez y menor probabilidad de contaminación. Diversos estudios demuestran una tasa de detección del 93% en sueros obtenidos en los primeros cinco días de la enfermedad. Para lograr una tipificación precisa, se han desarrollado métodos de RT-PCR anidados dirigidos al segmento M (7, 48). La RT-PCR convencional se emplea a menudo junto con el aislamiento viral para la investigación (82). Las Tecnologías de Secuenciación de Nueva Generación también se proponen como una herramienta muy útil para la identificación precisa y detección del genoma viral en la fase aguda, principalmente en aquellos casos que puedan tener secuencias genómicas divergentes o previamente desconocidas que limitan la eficacia de los ensayos de qRT-PCR para la detección del ARN viral (34).

Diagnóstico serológico

Los métodos diagnósticos serológicos detectan Acs IgM e inmunoglobulina G (IgG) específicos contra el VORO en muestras de suero, plasma y LCR, los cuales se producen entre la primera y segunda semana después de la FIS (24, 83). Las metodologías disponibles incluyen inmunoensayos enzimáticos,

pruebas de neutralización, fijación de complemento, inmunofluorescencia e inhibición de hemaglutinación. No obstante, la disponibilidad de inmunoensayos comerciales robustos para la detección del VORO es limitada (34, 84, 85). Dado que múltiples virus del serogrupo Simbu comparten epítopes en las proteínas N, las pruebas basadas en la proteína de la nucleocápside, muestran reactividad cruzada debido a que son capaces de generar una robusta respuesta inmunitaria humoral (86). Los ensayos de neutralización son el "Estándar de Oro" para la serología de arbovirus, pero rara vez se utilizan para el diagnóstico de pacientes debido al largo tiempo de respuesta y a la necesidad de emplear un mayor nivel de bioseguridad por la manipulación de virus vivos (87).

II.IX. Tratamiento

En la actualidad no se dispone de un tratamiento antiviral específico para tratar la infección por VORO. Los cuidados consisten en medidas generales como aislamiento y adecuada protección del paciente, reposo, antipiréticos para la fiebre, alivio del dolor, hidratación ante la presencia de vómitos, así como, la observación estricta y seguimiento de los pacientes. En situaciones donde el enfermo muestre manifestaciones neurológicas, se debe hospitalizar en unidades especializadas con el objetivo de garantizar un monitoreo constante (13).

En la literatura actual, existe poca información sobre estudios *in vitro* o *in vivo* para posibles enfoques terapéuticos o preventivos para la FO. En un estudio llevado a cabo por Livonesi y cols., el IFN-γ tuvo cierta actividad antiviral sobre el VORO, pero todavía se encuentra en investigación (88). Dos investigaciones recientes, divulgadas en 2024, sugieren que la wedelolactona y las acridonas podrían ser un tratamiento prometedor contra el virus, al presentar actividad antiviral significativa, basada en la inhibición de la replicación viral en modelos *in vitro* (89, 90).

II.X. Prevención

En la actualidad no se dispone de una vacuna para prevenir la infección por VORO. Las medidas de prevención están encaminadas al control y erradicación de vectores en la comunidad. Entre las medidas a aplicar se

encuentran la eliminación de criaderos de mosquitos, rellenar o drenar los charcos o posibles sitios de anegación temporal de agua, chapear la maleza para disminuir los sitios de reposos y refugio de vectores y la fumigación con insecticidas apropiados (51, 65). Entre las medidas de protección personal se encuentran: el empleo de barreras mecánicas (mosquiteros), el uso de repelentes contra insectos (trampas de luz para mosquitos), prendas protectoras y lociones antimosquitos (91).

De igual forma se exploran diversas estrategias para el desarrollo de candidatos vacunales. Un ensayo investiga el uso de un virus quimérico de la estomatitis vesicular con capacidad de replicación, el cual expresa las glicoproteínas del VORO. La inmunización en ratones con esta quimera generó una respuesta de neutralización contra el virus y se correlacionó con protección contra la infección, al reducir la carga viral y los signos clínicos (92).

II.XI. Fiebre de Oropouche en Cuba

En mayo de 2024, el MINSAP de Cuba notificó los primeros casos confirmados de FO en el país. Estos casos provenían de las provincias Santiago de Cuba y Cienfuegos donde se reportó un aumento de SFI, la mayoría negativos para IgM dengue. Las muestras de los pacientes sospechosos a la infección se enviaron al IPK donde se les aplicó el algoritmo diagnóstico del LNR de Arbovirus, resultando todas negativas a VDEN, VZIK, VCHIK y virus Mayaro (VMAY) y un total de 74 muestras, fueron positivas a VORO. Para la caracterización filogenética viral, con el empleo del segmento S del virus, se tomaron un total de 9 muestras y los análisis filogenéticos revelaron que los virus aislados se agruparon en una rama separada, estrechamente relacionada con los reportados en Brasil en 2023. Luego de la identificación inicial del VORO, se intensificó la vigilancia nacional confirmando la infección en otras tres provincias del país (Mayabeque, Matanzas y Villa Clara). Los estudios vectoriales realizados en áreas sospechosas de transmisión evidenciaron como vectores causales a cinco grupos de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* y un grupo de mosquitos picadores *Ceratopogonidae* (15).

Desde la primera identificación en mayo y hasta la semana epidemiológica 39 (octubre de 2024), se diagnosticaron 13 509 casos de FO con 555 confirmados por qRT-PCR, y se documentaron casos en 109 municipios de las 15

provincias del país. En septiembre de 2024, Cuba notificó tres casos de SGB asociados a la infección por VORO. En estos casos, se presentó evidencia de laboratorio de una infección viral reciente y un posible origen posinfeccioso, lo cual considera que la infección por el VORO y el SGB están fuertemente asociados en el contexto cubano (71). En 2025, se realizó el primer reporte de *Culicoides paraensis* en Cuba como el vector primario en la transmisión de virus (93).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.I. Tipo de investigación y diseño de estudio

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal desarrollado en el LNR de Arbovirus, Departamento de Virología, del Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia (CIDR) del IPK.

III.II. Definición del universo de estudio

El universo de estudio está conformado por todos los pacientes con sospecha clínica de FO que acudieron al Hospital del IPK en el período comprendido entre julio a agosto de 2024. En el estudio se tomó como criterio de inclusión a todo paciente con fiebre o historia de fiebre de hasta 5 días, acompañada de cefalea intensa y otros síntomas como astenia marcada, vómitos, diarreas, mialgia, artralgia, fotofobia, dolor abdominal y manifestaciones neurológicas (vértigo, ataxia, confusión, etc), que deseen participar en el estudio posterior a la firma del consentimiento informado (Anexo 1).

III.III. Colección y almacenamiento de las muestras

Se colectaron muestras de suero, orina y saliva de pacientes clínicamente sospechosos de infección por el VORO para su estudio por qRT-PCR. Las muestras se colectaron desde el día cero de la FIS hasta los 42 días de evolución para el seguimiento clínico de los enfermos y estudiar la cinética de detección viral. Las muestras fueron almacenadas a -40 °C hasta su estudio.

III.IV. Colección, procesamiento y análisis de la información

Los datos personales de los pacientes, así como los datos clínicos generales y de interés para la investigación como la signos y síntomas fueron recogidos en una hoja de registro de observaciones para cada paciente (Anexo 2 y 3). Posteriormente estos datos fueron introducidos a una base de datos en Microsoft Excel. Para el análisis de la información y confección de los gráficos, se empleó el programa estadístico GraphPad Prism versión 10.4.2 y Microsoft Excel.

III.V. Operacionalización de las variables

En la tabla 1 se muestra la operacionalización de las variables para determinar la asociación entre la cinética de detección viral en la población estudiada y los factores clínicos y sociodemográficos analizados.

Tabla 1. Operacionalización de las variables para determinar la asociación entre la cinética de detección viral en la población estudiada y los factores clínicos y sociodemográficos analizados.

Variable	Tipo de variable	Escala	Descripción
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Femenino Masculino	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer
Edad	Cuantitativa Discreta	18, 19, 20, 21...	Cantidad de años que un ser humano ha vivido desde su nacimiento
Provincia	Cualitativa nominal	La Habana Artemisa	Demarcación territorial administrativa en que se organizan algunos países o estados
Municipio	Cualitativa nominal	La Lisa Playa Cerro	Entidad administrativa en que se agrupa una localidad o provincia
FIS	Cualitativa ordinal	03/07/24... 11/07/24...	Día en que el paciente comenzó a tener manifestaciones clínicas sugestivas de la enfermedad
FTM	Cualitativa ordinal	05/07/24... 13/07/24...	Día de colecta de la muestra clínica
Fiebre	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Aumento de la temperatura corporal por encima de los 37°C

Cefalea	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación dolorosa de cualquier parte de la cabeza
Malestar general	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación general de malestar, a menudo acompañado de fatiga, dolor difuso y falta de interés en las actividades
Artralgias	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Dolor en las articulaciones sin inflamación
Mialgias	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Dolores musculares
Astenia	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación generalizada de cansancio y falta de fuerzas
Anorexia	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Disminución o pérdida del apetito
Dolor retro-orbital	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación dolorosa en la región posterior de los ojos que se intensifica con los movimientos oculares
Dolor abdominal	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Dolor que se siente en el área entre el pecho y la ingle, a menudo denominado vientre
Vómitos	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Expulsión forzada del contenido gástrico por la boca
Diarreas	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Aumento de la frecuencia y/o cantidad y/o cambios en la consistencia de las

			deposiciones
Escalofríos	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación de frío, por lo común repentina, violenta y acompañada de contracciones musculares, que a veces precede a un ataque de fiebre
Rash	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Aparición de sarpullido en un área de la piel que está irritada o inflamada
Dolor lumbar	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Presencia de dolor en la región localizada al borde inferior de las costillas y los glúteos, conocida como zona lumbar
Sudoración	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sudoración intensa no relacionada con el calor o el ejercicio
Fatiga	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación de cansancio que no mejora con el reposo
Vértigo	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación de movimiento o giros que a menudo se describe como mareo
Fotofobia	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Afección por la cual los ojos son más sensibles a la luz que lo normal
Adenopatías	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Presencia de ganglios linfáticos palpables
Sangramiento vaginal	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sangrado anormal que ocurre fuera del ciclo menstrual normal

Prurito	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación de picazón en el cuerpo
Inyección conjuntival	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Enrojecimiento de la conjuntiva
Parestesias	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Sensación de hormigueo o adormecimiento del cuerpo
Tos	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Reflejo involuntario del cuerpo que ayuda a limpiar las vías respiratorias
Disgeusia	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Trastorno del sentido del gusto que se manifiesta con una alteración en la percepción de los sabores
Faringitis	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Inflamación de la faringe
Rinorrea	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Secreción excesiva de moco por la nariz
PCR	Cualitativa nominal dicotómica	Positiva Negativa	Reacción en Cadena de la Polimerasa para la determinación del VORO

Fuente: Planilla de recogida de información.

III.VI. Consideraciones éticas

En el estudio se cumplieron todas las normas éticas y científicas para realizar estudios biomédicos en sujetos humanos desarrolladas y establecidas en las Guías Internacionales como la Declaración de Helsinki y las normas nacionales aprobadas por el Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos médicos. Se cumplieron estrictamente los tres principios básicos de autonomía, beneficencia y justicia.

El personal calificado explicó el procedimiento del estudio, empleando para ello un lenguaje claro y sencillo para facilitar su comprensión, a todos los pacientes que se les solicitó su participación. Al individuo se le explicó verbalmente el contenido del consentimiento y fueron informados de que podían retirarse del estudio, en cualquier momento, cuando así lo desearán, sin necesidad de justificación ni consecuencias. En el caso de pacientes con alguna discapacidad física o mental que no les permitía firmar el consentimiento, el procedimiento de la investigación fue explicado a su tutor, el cual se encargó de firmar el consentimiento informado. Todos los voluntarios que participaron en el estudio, estuvieron de acuerdo con la investigación y firmaron el consentimiento informado.

Las muestras biológicas obtenidas en el Hospital del IPK fueron manipuladas por el investigador responsable del estudio en la parte virológica, el jefe del LNR de Arbovirus y el personal del laboratorio implicado en la investigación. A la base de datos solo tienen acceso el autor principal del estudio, el responsable por la parte clínica y la parte virológica y el estadístico.

III.VII. Técnicas y Procesamiento

III.VII.I. Extracción del ARN viral

Se emplearon 140 µL de la muestra y se realizó la extracción semiautomática (QIACUBE y HT) del ARN viral utilizando el estuche comercial QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, <https://www.qiagen.com>). Se siguieron las instrucciones del protocolo estándar descritas por el fabricante (QIAGEN, Alemania). El ARN extraído se conservó a -80°C hasta su utilización.

III.VII.II. qRT-PCR para la detección del VORO

Para la reacción de qRT-PCR se emplearon sondas de hidrólisis o TaqMan® y para la amplificación se utilizaron cebadores y sondas diseñados por Naveca y cols. del Instituto Osvaldo Cruz, Brasil (Tabla 2) aprobados por la Red de Laboratorios para el Diagnóstico de Arbovirus (RELDA) de la OPS/OMS (94). Esta técnica de PCR está integrada por un sistema dúplex para la detección del VMAY y VORO, y se utilizó como un PCR simple solo para la detección del VORO. Los cebadores utilizados amplifican el segmento S del genoma del virus.

Tabla 2. Cebadores y sondas (94).

VORO_FNF 5'-TCCGGAGGCAGCATATGTG
VORO_FNR 5'-ACAACACCAGCATTGAGCACTT
VORO_FNP 5'-FAM-CATTTGAAGCTAGATACGG-NFQ-MGB

Para la mezcla de reacción de la qRT-PCR (Tabla 3), se empleó el estuche comercial *SuperScript™ III Platinum™ One- Step RT-RCP Kit* (Invitrogen™, EU).

En la tabla 3 se describe la composición de la mezcla de reacción de la PCR para la detección del genoma del VORO.

Tabla 3. Composición de la mezcla de reacción de la qRT-PCR. (94)

Reactivos	Volumen en μL (Para una muestra)
Agua libre de nucleasas	3,2
Solución Tampón 2X	10
Cebador VORO_FNF (10 μM)	0,6
Cebador VORO_FNR (10 μM)	0,6
Sonda VORO_FNP (10 μM)	0,2
Enzima	0,4
Volumen total de reacción	15

Esta mezcla se distribuyó en viales de PCR de 0,2 mL, se les añadieron 5 μL del ARN viral previamente extraído y se colocaron en el termociclador LineGene 9600 Plus (BioER).

En la tabla 4 se muestra el programa de la corrida de la PCR descrito por el fabricante para la amplificación del genoma del VORO.

Tabla 4. Programa de la corrida del qRT-PCR. (94)

Descripción	Temperatura	Tiempo
Transcripción inversa	50°C	15 minutos
Desnaturalización inicial	95°C	2 minutos
45 ciclos de:		
Desnaturalización	95°C	15 segundos
Elongación (lectura de la fluorescencia en esta etapa)	60°C	30 segundos

Se realizó la lectura de la fluorescencia en el fluoróforo FAM y se consideraron positivas aquellas muestras cuyo ciclo umbral (Ct) sea $\leq$ del ciclo 38 y negativas aquellas muestras cuyo Ct estuvo por encima del ciclo 38 y no amplifican una curva de fluorescencia.

III.VI.III. qRT-PCR Trioplex para la detección del VDEN, VZIK y VCHIK

Esta técnica describe el uso de un ensayo de qRT-PCR para la detección y diferenciación del ARN de los virus dengue, zika y chikungunya en distintos tipos de muestras clínicas y está diseñado para la detección simultánea de estos arbovirus en una sola muestra (95). Para la reacción de la PCR se emplearon sondas TaqMan® y para la amplificación se utilizaron cebadores y sondas diseñados por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, aprobados por la RELDA de la OPS/OMS. Este protocolo permite la amplificación de la región 5'-UTR del VDEN, la proteína nSP1 del VCHIK y el gen envoltura del VZIK, además dispone de cebadores y sondas para la detección de Human Ribonuclease P (RP) que funciona como control interno de la muestra.

El Kit qRT-PCR Trioplex CDC incluye 4 viales con cebadores y sondas para cada arbovirus combinados en un solo vial.

- 1 vial: VDEN-F, VDEN-R1, VDEN-R2 y sonda
- 1 vial: VCHIK-F, VCHIK-R y sonda
- 1 vial: VZIKV-F, VZIKV-R y sonda
- 1 vial: RP-F, RP-R y sonda

Para la mezcla de reacción del qRT-PCR Trioplex CDC (Tabla 5) y RP (Tabla 6), se utilizó el estuche comercial *SuperScript™ III Platinum™ One- Step RT-RCP Kit* (Invitrogen™, EU).

En la tabla 5 se describe la composición de la mezcla de reacción de la PCR para la detección del genoma del VDEN, VZIK y VCHIK.

Tabla 5. Composición de la mezcla de reacción del Trioplex CDC qRT-PCR.

Reactivos	Volumen en μL (Para una muestra)
Agua libre de nucleasas	1,5
2X PCR Reacción Mix	12,5
VDEN Mix VCHIK Mix VZIK Mix	0,5
Enzima	0,5
Volumen total de reacción	15

En la tabla 6 se describe la composición de la mezcla de reacción de la PCR para la detección de la RP.

Tabla 6. Composición de la mezcla de reacción del RP.

Reactivos	Volumen en μL (Para una muestra)
Agua libre de nucleasas	1,5
2X PCR Reacción Mix	12,5
RP Mix	0,5
Enzima	0,5
Volumen total de reacción	15

Esta mezcla fue añadida a cada pozo de una placa de 96 pocillos [Multiwell Plate 96 blanca]. Posteriormente a cada pozo se les añadieron 10 μL del ARN

viral previamente extraído. Las placas se colocaron en el termociclador LightCycler® 96 System. (Tabla 7)

En la tabla 7 se muestra el programa de corrida de la PCR descrito por el fabricante para la detección del genoma del VDEN, VZIK y VCHIK.

Tabla 7. Programa de corrida del qRT-PCR.

Descripción.	Temperatura.	Tiempo.
Transcripción inversa.	50°C	30 minutos
Desnaturalización inicial	95°C	2 minutos
45 ciclos de:		
Desnaturalización	95°C	15 segundos
Elongación (lectura de la fluorescencia en esta etapa).	60°C	60 segundos

Se realizó la lectura de la fluorescencia en el fluoróforo FAM para detectar VDEN y RP, en el fluoróforo HEX para VCHIK y el Red 610 para VZIK. Se consideran positivas aquellas muestras cuyo Ct fue ≤ 38 y negativas aquellas muestras cuyo Ct estuvo por encima del ciclo 38 y no amplificaron una curva de fluorescencia.

III.VI.IV. qRT-PCR Multiplex de Dengue

Esta técnica de qRT-PCR está diseñada para la detección y diferenciación del ARN de los cuatro serotipos del virus Dengue (VDEN 1-4) en muestras clínicas (96). Para la reacción de qRT-PCR se emplearon sondas TaqMan® y para la amplificación se utilizaron cebadores y sondas diseñados por el CDC (Tabla 8), aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Esta técnica de PCR está diseñada para la amplificación del gen Envoltura de los VDEN 1-4.

Tabla 8. Cebadores y sondas empleados para la qRT-PCR Multiplex de Dengue.

D1-F- CAAAAGGAAGTCGTGCAATA
D1-R- CTGAGTGAATTCTCTCTACTGAAC
D1-Sonda- CATGTGGTTGGGAGCACGC- BHQ1- 3'
D2-F- CAGGTTATGGCACTGTCACGAT
D2-R- CCATCTGCAGCAACACCATCTC
D2-Sonda- CTCTCCGAGAACAGGCCTCGACTTCAA- BHQ1- 3'
D3-F- GGACTGGACACACGCACTCA
D3-R- CATGTCTCTACCTTCTCGACTTGTCT
D3-Sonda- ACCTGGATGTCGGCTGAAGGAGCTTG- BHQ2- 3'
D4-F- TTGTCCTAATGATGCTGGTCG
D4-R- TCCACCTGAGACTCCTTCCA
D4-Sonda- TTCCTACTCCTACGCATCGCATTCCG- BHQ3- 3'

Para la mezcla de reacción de la qRT-PCR (Tabla 9), se utilizó el estuche comercial *SuperScript™ III Platinum™ One- Step RT-RCP Kit* (Invitrogen™, EU).

En la tabla 9 se describe la composición de la mezcla de reacción de la PCR para la detección del genoma del VDEN 1-4.

Tabla 9. Composición de la mezcla de reacción de la qRT-PCR.

Reactivos	Volumen en µL (Para una muestra)
Agua libre de RNasas	2,2
Solución Tampón 2X	12,5
Cebador 1 & 3 (1 µM)	0,5
Cebador 2 & 4 (500 nM)	0,25
Sondas 1-4 (180 nM)	0,45
Enzima	0,5
Volumen total de la reacción	20

Esta mezcla fue añadida a cada pozo de una placa de 96 pocillos [Multiwell Plate 96 blanca]. Posteriormente a cada pozo se les añadieron 5 µL del ARN

viral previamente extraído. Las placas se colocaron en el termociclador LightCycler® 96 System. (Tabla 10)

En la tabla 10 se muestra el programa de corrida de la PCR descrito por el fabricante para la detección del genoma del VDEN 1-4.

Tabla 10. Programa de la corrida de la PCR.

Descripción.	Temperatura.	Tiempo.
Transcripción inversa.	50°C	30 minutos
Desnaturalización inicial	95°C	2 minutos
45 ciclos de:		
Desnaturalización	95°C	15 segundos
Elongación (lectura de la fluorescencia en esta etapa).)	60°C	60 segundos

Se realizó la lectura de fluorescencia en el fluoróforo FAM para detectar VDEN-1, el fluoróforo HEX para VDEN-2, Texas red para VDEN-3 y Cy5 para VDEN-4. Se consideraron positivas aquellas muestras cuyo Ct sea $\leq$ del ciclo 37 y negativas aquellas muestras cuyo Ct estuvo por encima del ciclo 37 y no amplifican una curva de fluorescencia.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagnóstico clínico de la FO resulta particularmente desafiante debido a que la enfermedad presenta síntomas similares a los de otras arbovirosis endémicas en la región de las Américas como el Dengue, Zika, Chikungunya, Fiebre amarilla y Mayaro (97, 98). Esta similitud clínica, unida a la inespecificidad de los hallazgos hematológicos habituales, hace necesario contar con un diagnóstico diferencial mediante pruebas de laboratorio específicas (99). La FO generalmente se confirma detectando el genoma del VORO en plasma y suero de pacientes con infección aguda, o mediante técnicas para la detección de Acs IgM anti VORO durante la convalecencia temprana (94, 100). Algunos estudios describen el empleo de otros fluidos biológicos como la orina y la saliva para la detección de arbovirus, (101, 102) sin embargo, estos son pocos y por lo general el número de muestras procesadas es pequeño.

En nuestra investigación se estudiaron 283 pacientes procedentes de las provincias La Habana y Artemisa, que acudieron al Hospital del IPK con un cuadro clínico sospechosos de FO, en el período comprendido entre julio y agosto del 2024. A los pacientes se les realizó qRT-PCR para la detección de VORO, VDEN, VZIK y VCHIK. En los pacientes que resultaron positivos a VORO, una vez firmado el consentimiento informado, se les colectaron muestras de suero, orina y saliva en días sucesivos durante la evolución de la enfermedad a lo largo del periodo de estudio. Esta investigación se diseñó con el propósito de profundizar en el conocimiento de la FO, su clínica, epidemiología, diagnóstico y dinámica de detección viral en diferentes fluidos biológicos. Actualmente se dispone de datos limitados sobre la tasa de detección del genoma del VORO, la persistencia y la cinética viral en muestras de orina y saliva, por lo cual esta investigación ayuda a dilucidar y conocer mejor la presencia del ARN viral en dichos fluidos.

IV.I. Incidencia de la infección por VORO en la población estudiada

En la figura 3 se reporta la incidencia de la infección por VORO y VDEN mediante qRT-PCR en pacientes con sospecha clínica de FO, atendidos en el Hospital del IPK entre julio y agosto de 2024.

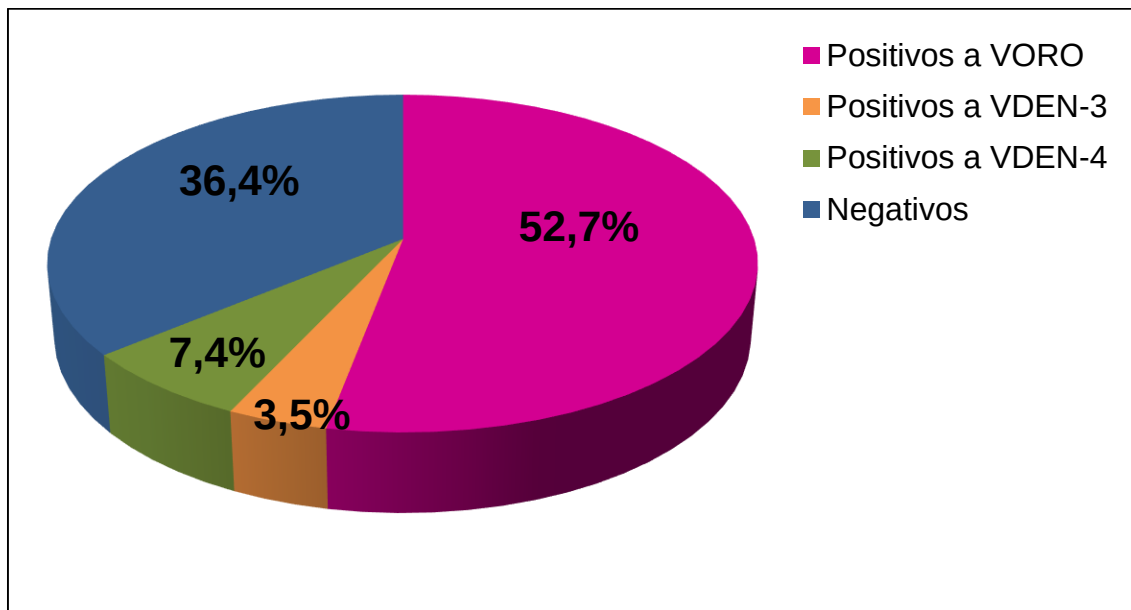


Figura 3. Incidencia de la infección por VORO y VDEN mediante qRT-PCR en pacientes con sospecha clínica de FO, atendidos en el Hospital del IPK entre julio y agosto de 2024.

El estudio incluyó 283 pacientes con un SFI sospechosos de FO. De ellos, 149 casos (52,7%) resultaron positivos a VORO en muestras de suero u orina y 31 pacientes (10,9%) fueron positivos a VDEN; 10 a VDEN-3 (3,5%) y 21 a VDEN-4 (7,4%). Se logró confirmar el 63,6% de los casos, mientras que 103 pacientes (36,4%), fueron negativos a VORO, VDEN, VZIK y VCHIK. Del 36,4% de los pacientes negativos a todos los arbovirus estudiados, el 12,6% fue positivo a SARS-CoV-2. Además, en tres pacientes se confirmaron coinfecciones por VORO y VDEN; dos con VDEN-3 y uno con VDEN-4 lo que representó el 1,6% del total de casos confirmados.

Los resultados obtenidos están en correspondencia con los reportados en la vigilancia que realizó el LNR de Arbovirus desde la semana epidemiológica 28 a la 34 del año 2024, donde en la provincia de La Habana se encontraban circulando los VDEN-3 y VDEN-4, con una mayor incidencia de este último, y en Artemisa solo circulaba VDEN-3, aunque en ambas provincias, la mayor

positividad se reportaba a VORO (Datos no publicados del LNR de Arbovirus, Departamento de Virología, CIDR, IPK, 2024). Durante el período de estudio también se reportaba la circulación de SARS-CoV-2 en dichas provincias (Datos no publicados del LNR de Virus Respiratorio, Departamento de Virología, CIDR, IPK, 2024). Los resultados de SARS-CoV-2 se tomaron de las historias clínicas de los pacientes sospechosos de FO que proporcionó el médico a cargo de la investigación. A los pacientes con síntomas respiratorios se le realizó una prueba rápida de antígeno de SARS-CoV-2 como parte del protocolo de manejo clínico (Datos recogidos de las historias clínicas de los pacientes, Hospital del IPK, 2024).

Los arbovirus son endémicos en las regiones tropicales de las Américas y con frecuencia causan grandes brotes. Durante las últimas décadas, la FO se ha documentado en múltiples países de América del Sur y Central, regiones con condiciones ambientales favorables para la circulación y transmisión del virus (48, 62). Así lo demuestra Ciuoderis y cols., en 2022 mediante una vigilancia pasiva de SFI en Colombia, donde de 2 967 pacientes, se detectó VDEN en el 20,7% y VORO en el 10,9% de los casos, logrando confirmar el 31,6% a arbovirosis, mientras que el 68,4% de los casos restantes resultaron negativos a VZIK, VCHIK y VMAY y, de estas, el 13,1% fue positivos a SARS-CoV-2. Además, se detectaron diez casos de coinfección por VORO y VDEN representando el 1,4% (103). En este estudio la positividad al VORO fue menor que al VDEN con respecto al nuestro, pero teniendo en cuenta que lo realizado es una vigilancia pasiva de SFI, que solo se empleó una submuestra para la detección del VORO y que las regiones estudiadas presentan condiciones hiperendémicas para dengue, se demostró la circulación silenciosa del VORO en dicha región, lo cual incrementa la posibilidad de coinfecciones.

En un estudio realizado por Martins- Luna en 2020, en la región costera de Perú, con 496 muestras almacenadas en el biobanco del LNR correspondientes a pacientes con SFI, confirmaron la infección por VDEN, VCHIK o VZIK en el 46,8% de los casos, mientras que el 26,4% fueron positivas a VORO, confirmando el 73,2% de los casos a arbovirosis. Del total de casos confirmados, el 9,9% mostraron coinfecciones por VORO y VDEN y el 2,7% por VORO y otros arbovirus como VZIK y VCHIK (104). A pesar que en el estudio antes mencionado se empleó un mayor número de casos, la

positividad a infecciones por arbovirus, especialmente VDEN y VORO es muy similar a la reportada en nuestra investigación, teniendo en cuenta que, en el momento de desarrollo de la misma, solo se encontraban circulando en Cuba estos dos arbovirus.

En otros estudios, de forma general, se describen coinfecciones entre arbovirus como el nuestro, así lo evidencian Colavita y cols., en 2025, los cuales reportaron una coinfección por VORO y VDEN-3 en una paciente con un SFI que llegó a Italia tras un viaje a Cuba entre julio y agosto del 2024 (105). Durango y cols., en 2022 reportan coinfecciones por VORO y VDEN en pacientes con SFI en Perú (106). Naveca y cols. confirman en el estado de Amazonas, Brasil, nueve coinfecciones por VORO y VDEN; una con VDEN-1 y ocho con VDEN-2, los cuales eran los serotipos de dengue de mayor incidencia en dicha región durante el periodo estudiado, además en este último estudio se reportó un caso adicional de coinfección por VORO y VMAY (107). Otros autores no reportan coinfecciones por arbovirus (23).

Las coinfecciones virales, aunque ocurren con baja frecuencia, enfatizan la complejidad del panorama epidemiológico actual de las infecciones por arbovirus y las posibles interacciones entre ellos durante brotes simultáneos en entornos urbanos, así como la posible interacción con virus de otras familias que se mantienen circulando en la misma región.

IV.II. Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con infección confirmada a VORO

En la tabla 11 se describen las características sociodemográficas de los 149 pacientes con infección confirmada a VORO.

Como se evidencia en la tabla 11, el sexo femenino tuvo una mayor proporción con 82 casos (55,0%). El virus se detectó en todas las edades desde los 18 hasta los 88 años con un predominio entre los 46 y 60 años (34,9%), con una mediana de 53 años. En 28 pacientes (18,8%) se reportaron comorbilidades. Las más frecuentes fueron hipertensión arterial (HTA) (11,4%), asma bronquial (AB) (4,7%), diabetes mellitus (DM) (3,4%), cardiopatía isquémica (2,0%) y obesidad (1,3%). La frecuencia de las comorbilidades por pacientes varió de 1 a 5 ($1,6 \pm 1,2$).

Tabla 11. Características sociodemográficas de los 149 pacientes con infección confirmada a VORO por provincia.

	La Habana (n=139)	Artemisa (n=10)	Total (n=149)
Sexo			
Femenino	79	3	82
Masculino	60	7	67
Edad			
18-35	43	4	47
36-45	18	2	20
46-60	49	2	51
+ 60	27	1	28
Desconocido	2	1	3
Comorbilidades			
Si	27	1	28
No	112	9	121

Fuente: Planilla de recogida de datos

Los resultados obtenidos están en correspondencia con los reportados en la vigilancia que realizó el LNR de Arbovirus desde la semana epidemiológica 28 a la 34 del año 2024, donde en los pacientes con infección confirmada a VORO, se observó una mayor proporción del sexo femenino (56,4%) y los grupos de edades más afectaron fueron de 18 a 35 años (27,7%) y 46 a 60 años (31,6%) (Datos no publicados del LNR de Arbovirus, Departamento de Virología, CIDR, IPK, 2024).

En la figura 4 se describe los síntomas y signos recogidos de los 149 pacientes con infección confirmada a VORO.

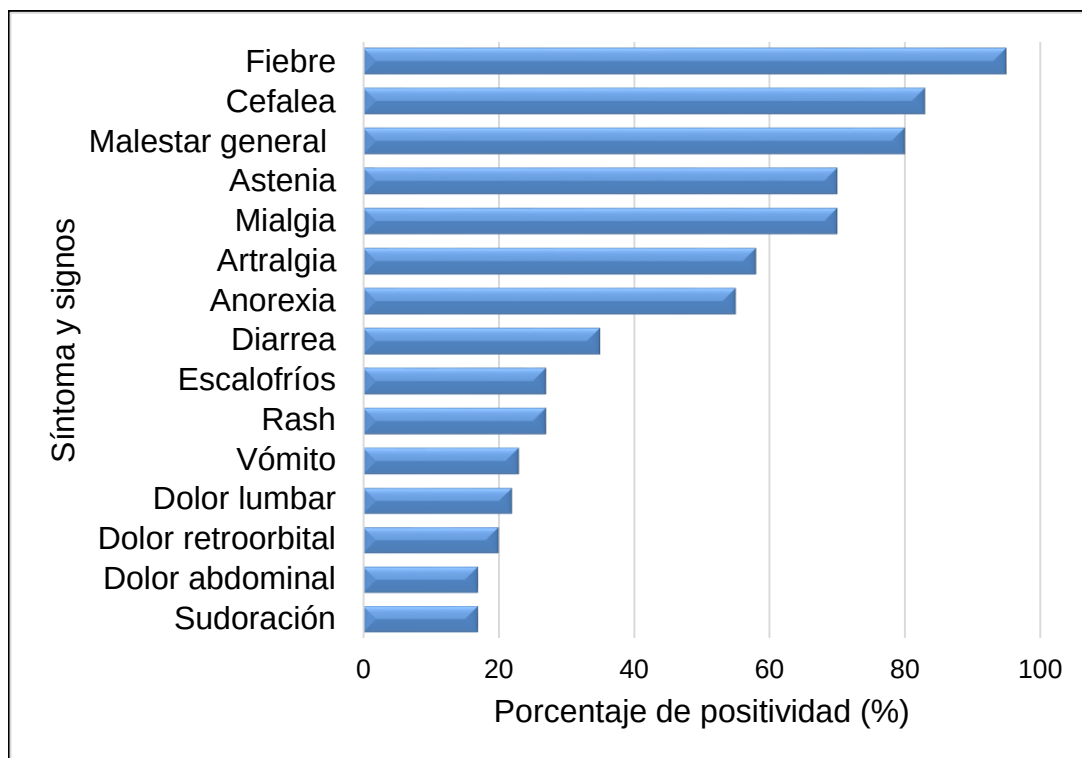


Figura 4. Síntomas y signos más frecuentes descritos en los 149 pacientes con infección confirmada a VORO.

Los síntomas y signos más frecuentes descritos en los pacientes con infección confirmada a VORO en nuestro estudio fueron: fiebre (94,6%), cefalea (83,2%), malestar general (79,8%), mialgia (70,4%), astenia (69,7%), artralgia (58,3%) y anorexia (55%). Se observaron otros síntomas como diarrea (34,8%), escalofríos y rash (26,8%), vómito (22,8%), dolor lumbar (22,1%), dolor retro-orbital (20,1%), dolor abdominal y sudoración (16,7%). Además, se manifestaron en menor frecuencia fatiga y vértigo (12,7%), fotofobia (11,4%), adenopatías cervicales, prurito e inyección conjuntival (4%), sangramiento vaginal, parestesias y disgeusia (3,3%). En el 6% de los casos se observaron síntomas respiratorios como tos, faringitis, rinorrea, disnea y congestión nasal. No se observaron complicaciones clínicas, ni manifestaciones neurológicas. El número de síntomas y signos por paciente varió de 4 a 18 ($8,41 \pm 3,83$).

En la figura 5 se presenta el total de pacientes con infección confirmada a VORO. De este grupo se muestra el número de pacientes a los que se les realizó seguimiento clínico de la enfermedad, y de estos, los pacientes que presentaron o no recaídas clínicas.

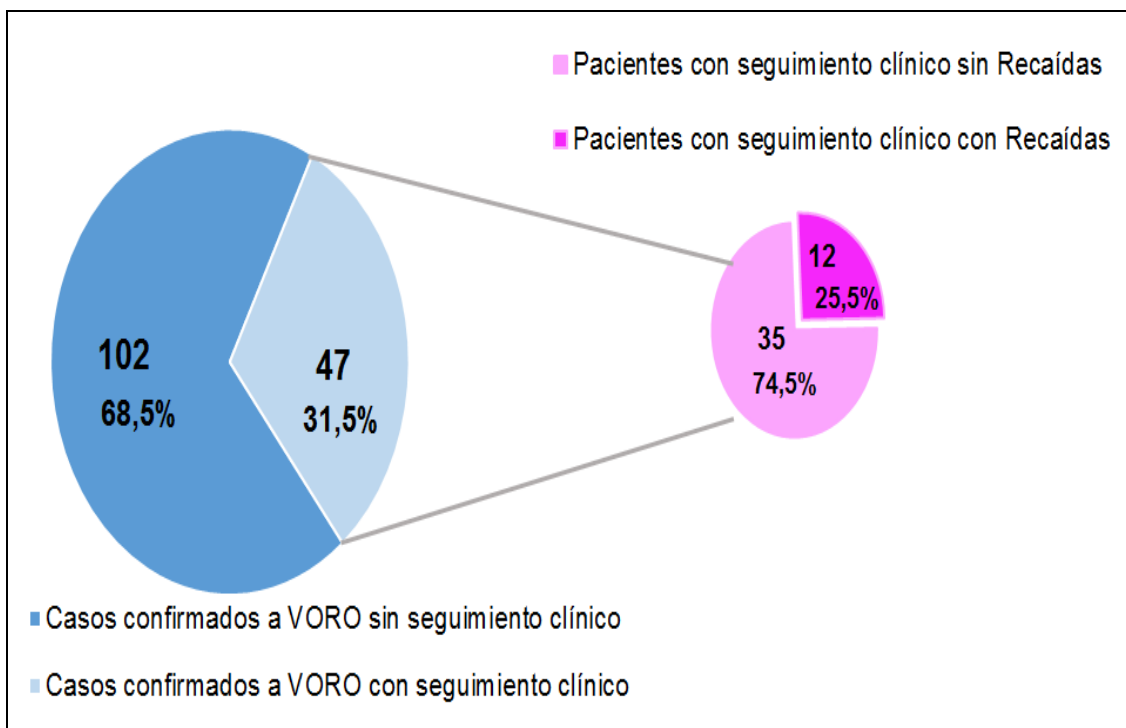


Figura 5. Pacientes con infección confirmada a VORO que se les realizó seguimiento clínico de la enfermedad y de estos los que presentaron o no recaídas clínicas.

De los 149 pacientes confirmados a VORO, solo se le pudo realizar seguimiento clínico a 47 de ellos (31,5%), mientras que 102 (68,5%) no acudieron nuevamente a la consulta. De los 47 pacientes a quienes se les pudo realizar seguimiento clínico, 35 de ellos (74,5%) no evidenciaron recaídas clínicas, mientras que 12 paciente (25,5%) presentaron recurrencia de la enfermedad.

En la tabla 12 se describen las características sociodemográficas de los pacientes con seguimiento clínico con y sin recaídas de la enfermedad.

Tabla 12. Características sociodemográficas de los pacientes con seguimiento clínico con y sin recaídas de la enfermedad.

	Pacientes con seguimiento clínico que no desarrollaron recaídas (n=35)	Pacientes con seguimiento clínico que desarrollaron recaídas (n=12)
Sexo		
Femenino	22	6
Masculino	13	6
Edad		
18-35	10	5
36-45	4	3
46-60	12	4
+ 60	9	0
Comorbilidades		
Si	23	4
No	12	8

En los 35 pacientes con seguimiento clínico que no evidenciaron recaídas clínicas de la enfermedad, el sexo femenino tuvo una mayor proporción con 22 casos (62,9%). El virus se detectó con una mayor incidencia entre los 46 y 60 años (34,3%), con una mediana de 53 años y 23 pacientes (65,7%) presentaron comorbilidades como HTA (37,1%), AB (11,4%) y DM (2,9%).

En los 12 pacientes que presentaron recaídas clínicas de la enfermedad, el intervalo entre la FIS y las recaídas osciló entre los siete y 25 días ($15,33 \pm 5,24$). La distribución por sexo fue similar (50 % mujeres, 50 % hombres) y el grupo etario más afectado osciló entre los 23 y 35 años (41,7%), con una mediana de 29 años. En cuatro pacientes (33,3%) se describieron comorbilidades como HTA (25,0%), AB (16,6%) y DM (8,3%) con una a dos comorbilidades por paciente.

En la tabla 13 se compara el porcentaje de síntomas y signos de pacientes con seguimiento clínico con y sin recaídas clínicas de la enfermedad.

Tabla 13. Comparación del porcentaje de síntomas y signos de pacientes con seguimiento clínico con y sin recaídas clínicas.

Síntomas y signos	Pacientes con seguimiento clínico que no desarrollaron recaídas. N=35 (%)	Pacientes con seguimiento clínico que desarrollaron recaídas. N=12 (%)
Fiebre	34 (97,1)	12 (100)
Cefalea	33 (94,3)	12 (100)
Malestar general	27 (77,1)	12 (100)
Anorexia	25 (71,4)	11 (91,7)
Mialgias	27 (77,1)	10 (83,3)
Astenia	32 (91,4)	10 (83,3)
Artralgia	27 (77,1)	10 (83,3)
Dolor lumbar	21 (60,0)	7 (58,3)
Diarrea	18 (51,4)	6 (50,0)
Sudoración	18 (51,4)	5 (41,7)
Dolor retro-orbital	20 (57,1)	5 (41,7)
Fatiga	14 (40,0)	5 (41,7)
Escalofríos	14 (40,0)	5 (41,7)
Rash	15 (42,8)	5 (41,7)
Vómito	8 (22,8)	4 (33,3)
Dolor abdominal	12 (34,3)	4 (33,3)
Vértigo	13 (37,1)	3 (25,0)
Fotofobia	11 (31,4)	3 (25,0)
Adenopatías cervicales	2 (5,7)	3 (25,0)
Inyección conjuntival	4 (11,4)	1 (8,3)
Sangrado vaginal	0 (0,0)	1 (8,3)
Prurito	7 (20,0)	1 (8,3)
Tos	2 (5,7)	0 (0,0)
Faringitis	0 (0,0)	0 (0,0)
Rinorrea	2 (5,7)	0 (0,0)
Disgeusia	4 (11,4)	0 (0,0)
Lipotimia	1 (2,8)	0 (0,0)
Parestesia	1 (2,8)	1 (8,3)

Fuente: Planilla de recogida de síntomas clínicos.

El cuadro clínico de los pacientes con seguimiento clínico que no evidenciaron recaídas se caracterizó por la presencia de fiebre (97,1%), cefalea (94,3%) y

astenia (91,4%), seguido por malestar general, mialgia y artralgia (77,1%), anorexia (71,4%), dolor lumbar (60,0%) y dolor retro-orbital (57,1%). Además, se evidenciaron otros síntomas como sudoración y diarrea (51,4%), rash (42,8%), fatiga y escalofríos (40,0%). En menor porcentaje se observó vértigo (37,1%), dolor abdominal (34,3%) y fotofobia (31,4%). El número de síntomas por paciente varió de 5 a 17 ($10,5 \pm 3,8$).

El cuadro clínico de los pacientes con recaídas se caracterizó por la presencia de fiebre, cefalea y malestar general (100%), seguido de anorexia (91,7%), mialgia, astenia y artralgia (83,3%), dolor lumbar (58,3%) y diarrea (50%). Se evidenciaron otros síntomas como sudoración, fatiga, escalofríos y rash (41,7%), vómito y dolor abdominal (33,3%), vértigo, fotofobia y adenopatías cervicales (25%). En menor porcentaje se observó inyección conjuntival, sangrado vaginal y prurito (8,3%). El número de síntomas por paciente varió de 7 a 17 ($11,1 \pm 3,1$).

En un estudio realizado en el estado de Amazonas, Brasil en 2024 durante un brote de VORO, la mediana de edad de los casos confirmados se desplazó hacia edades más avanzadas ($35,7 \pm 17,0$) y no se observaron diferencias significativas por sexo, indicando un equilibrio entre hombres y mujeres. Los pacientes confirmados a VORO presentaron como síntomas más frecuentes fiebre (97,2%), cefalea (92,7%) y mialgia (78,2%). Otros síntomas reportados incluyeron náuseas (42,1%), dolor retro-orbital (34,1%), artralgia (28,5%), vómitos (25,7%), fotofobia (8,4%), diarrea (7,4%) y rash (2,8%). La mayoría de las infecciones durante este brote fueron leves y autolimitadas (107). En estos aspectos, nuestros resultados coinciden con los observados en el estudio antes mencionado.

Otros estudios también reportaron síntomas similares al nuestro. Mourão y cols., en una epidemia en Manaus entre 2007 y 2008, reportaron que el 16,0% de los pacientes confirmados a VORO presentaron fenómenos hemorrágicos espontáneos como sangramiento vaginal (108) y más reciente, Gómez-Camargo en 2022 describió la infección en una paciente que cursó con inyección conjuntival bilateral acompañado de otros síntomas generales (109).

Durante un brote en el estado de Pará, Brasil, en 2022 se reportó que el 52,1% de los individuos con infección confirmada a VORO eran mujeres, con predominio del grupo de edad de 24 a 34 años. Los síntomas más frecuentes

fueron la fiebre (97,4%), la cefalea (76,9%) y la artralgia (69,2%). Se identificaron 14 casos (34,1%) con recurrencia de síntomas entre ocho y 28 días de la FIS, con diversas manifestaciones clínicas, destacando la fiebre (100%), la cefalea (85,7%) y la artralgia (57,1%) (110). Nuestra investigación coincide en todos los aspectos con este estudio. En otra investigación realizada en 2024 por Gourjault y cols., se documentó la infección por VORO en un grupo de viajeros, donde el 60% de ellos experimentaron recaída de los síntomas entre siete y 15 días después de la remisión inicial, los mismos también presentaron síntomas similares a los descritos en la bibliografía para VORO (111).

Nuestra investigación no coincide con resultados obtenidos en estudios por Usuga y cols., en 2024, durante un brote en Colombia donde se reportó que la edad de los pacientes osciló entre 7 y 92 años, con distribución equitativa por sexo con un ligero predominio de hombres (51%). El cuadro clínico predominante en estos pacientes incluyó escalofríos (94,6%), cefalea (87,2%), artralgia (65,0%), mialgia (41,0%), diarrea (34,2%), fatiga (33,3%) y rash (6,0%). La fiebre solo se registró en el 46 % de los casos y menos del 3% presentó síntomas respiratorios. No se observaron manifestaciones hemorrágicas (112). En otro estudio realizado por Silva-Caso en 2019, además de los síntomas clínicos generales, el 2,2% de los pacientes mostró una clínica sugestiva de infección grave por VORO como dolor abdominal intenso, dolor torácico y hematemesis (113) y, Vernal y cols., en 2019 describen un caso de meningoencefalitis aséptica asociado a la infección por VORO donde dicho paciente presentó fotofobia intensa, rigidez de nuca y confusión (114).

IV.III. Dinámica de detección del VORO en muestras de suero, orina y saliva de pacientes con infección confirmada

De los 149 pacientes con una infección confirmada a VORO, se colectaron muestras de suero (n = 184), orina (n = 70) y saliva (n = 48) durante el periodo de estudio.

En la tabla 14 se presenta el total de muestras de cada fluido biológico colectadas de los pacientes con infección confirmada a VORO.

Tabla 14. Total de muestras de cada fluido biológico colectadas de los pacientes con infección confirmada a VORO.

	Suero	Orina	Saliva
Total	184	70	48
Positivas a VORO (%)	144 (78,3%)	39 (55,7%)	22 (45,8%)
Negativas a VORO (%)	40 (21,7%)	31 (44,3%)	26 (54,2%)

De los 184 sueros analizados, 144 fueron positivos a VORO, lo que equivale a una tasa de positividad del 78,3%. En el caso de las 70 muestras de orina, 39 resultaron positivas (55,7%), mientras que, de 48 muestras de saliva, en 22 se detectó la presencia del genoma del virus (45,8%).

En la figura 6 se presenta el porcentaje de positividad a VORO en muestras de suero, orina y saliva según los días de evolución de la enfermedad.

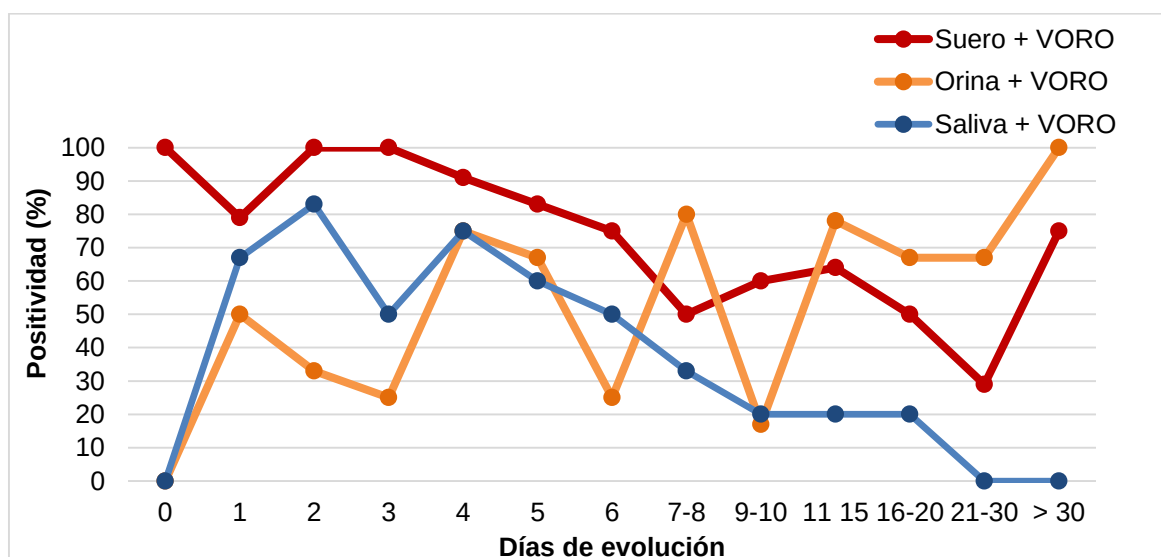


Figura 6. Porcentaje de positividad a VORO en muestras de suero, orina y saliva según los días de evolución de la enfermedad.

Como se evidencia en la figura 6, el suero mostró una positividad del 80-100% durante los seis primeros días de la FIS con 111 positivos de 122 sueros colectados en este período, alcanzando el 100% en los días 0, 2 y 3. A partir del séptimo día, la positividad descendió por debajo del 75,0% con 30 sueros positivos de 58. Se detectó el genoma viral por más de 30 días en 3 de 4 muestras colectadas.

Las muestras de orina presentaron una positividad inferior al 70,0% en los primeros seis días con 20 positivas de 41 orinas colectadas; sin embargo, en el día 7 de la FIS, la tasa se elevó al 80,0% con 4 positivas de 5, y al 78,0% después del día 11 con 14 positivas de 18 muestras y, al igual que en las muestras de suero, se detecta el ARN del VORO por más de 30 días con una positiva de una muestra de orina colectada.

En la saliva, la detección viral osciló entre el 50,0% y el 80,0% durante los primeros cinco días con 18 muestras de salivas positivas de 28 colectadas, disminuyendo progresivamente a partir del día 6 con 4 positivas de 20, solo se detectó el ARN hasta aproximadamente el día 16 al 20 de la FIS.

La figura 7 muestra el porcentaje de positividad a VORO en muestras de suero, orina y saliva colectadas en los primeros seis días de la FIS (etapa aguda), entre 7 y 10 días, 11 y 20 y por más de 20 días de la evolución de la enfermedad.

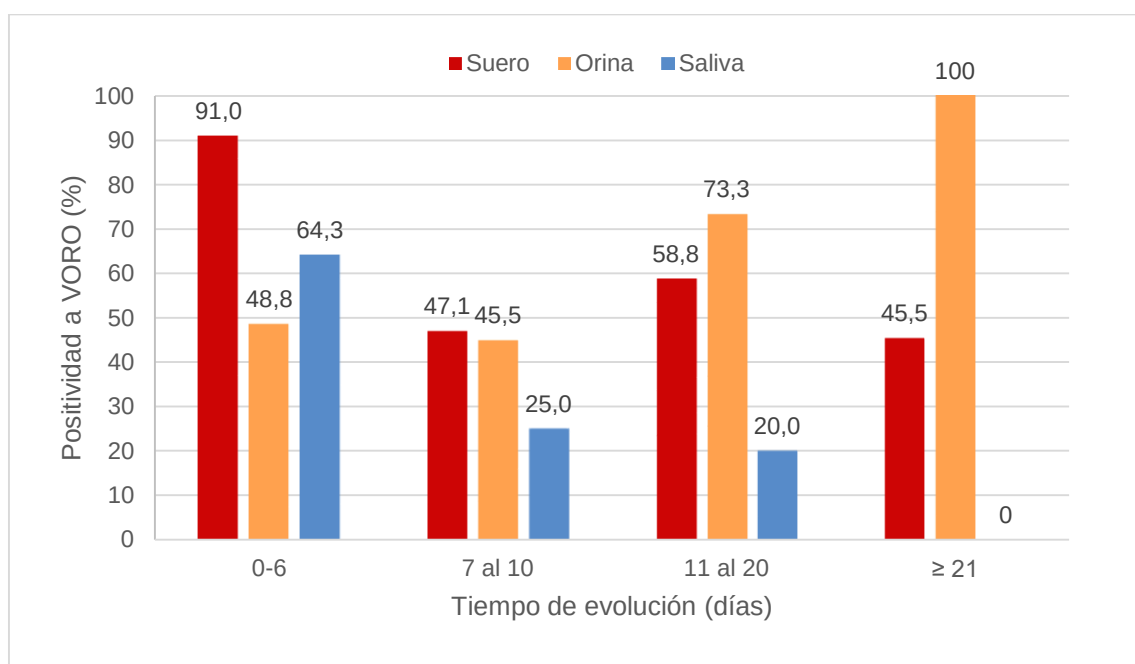


Figura 7. Porcentaje de positividad a VORO en muestras de suero, orina y saliva colectadas en diferentes rangos de días de evolución de la enfermedad.

Entre los 0 y 6 días de evolución se evidencia una mayor positividad en la muestra de suero (91,0%) en comparación con la orina (48,8%) y la saliva (64,3%). Entre los días 7 y 10, la positividad en el suero disminuye a un 47,1%,

en la orina a un 45,5% y en la saliva a un 25,0%. Entre los días 11 y 20 de la FIS, el suero se mantiene constante con un 58,8% y la saliva disminuye a un 20,0%, mientras que en la orina la positividad aumenta a un 73,3%. A partir de los 21 días de evolución, el suero continúa estable con un 45,5%, la orina aumenta la positividad a un 100% y en la saliva no se detecta genoma del VORO.

En la figura 8 se presenta el ciclo umbral en muestras de suero, orina y saliva positivas a VORO colectadas en los primeros seis días de la FIS, entre 7 y 10 días, 11 y 20 y por más de 20 días de la evolución de la enfermedad.

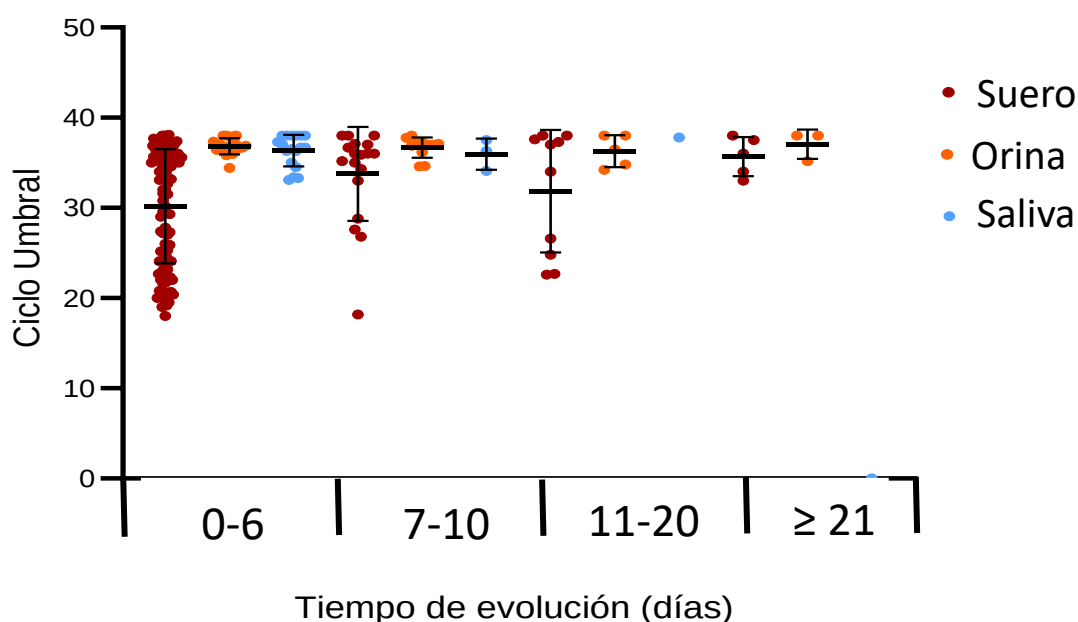


Figura 8. Ciclo umbral en muestras de suero, orina y saliva positivas a VORO colectadas en diferentes rangos de días de evolución de la enfermedad.

El genoma del VORO fue detectado en el suero y la orina hasta los 42 días de evolución y en saliva hasta 18 días. Entre los 0 y 6 días de la FIS se agrupó el 77,1% de las muestras de suero positivas a VORO con un Ct promedio de 30,2; el 51,3% de las orinas positivas (Ct promedio 36,8) y el 81,8% de las muestras de salivas (Ct promedio 36,3).

Entre los días siete y 10 se agrupó el 5,6% de los sueros con un Ct promedio de 33,7; el 12,8% de las orinas (Ct promedio 36,6) y el 9,1% de las salivas (Ct promedio 35,5).

Entre los 11 y 20 días se agrupó el 13,8 de los sueros con un Ct promedio de 32,8; el 28,2% de las orinas (Ct promedio 36,5) y el 9,1% de las salivas (Ct promedio 37,6).

A partir del día 21 se agrupó el 3,5% de los sueros positivos con un Ct promedio de 35,7; el 7,7% de las orinas (Ct promedio 37,1) y el 0% de las salivas.

Diversos estudios coinciden que las muestras de suero y plasma colectadas durante los primeros siete días de la enfermedad son las muestras idóneas para el diagnóstico molecular del VORO (81, 115). El CDC también recomienda colectar el suero durante este periodo (77). En un estudio desarrollado por Gourjault en 2024, se identificó el ARN del VORO mediante qRT-PCR en muestras de sangre total y orina a los 25 días de evolución y, en sangre total, orina y suero al día 31 de la FIS (111). Castilletti en 2025 detecta el genoma del VORO en suero a los 10 días de la FIS y en orina y sangre total a los 10, 16 y 32 días (78). Los resultados de esta investigación coinciden con los obtenidos en los estudios antes mencionados y sugieren una larga detectabilidad del ARN del VORO en muestras de suero y orina colectadas más allá de los siete días de la FIS.

Otras investigaciones sugieren que la sangre total es la muestra ideal para la detección y el seguimiento de las infecciones por el VORO, incluso mejor que el suero y plasma (105, 116). Esto sugiere que el VORO podría residir en las células sanguíneas, lo que pone de manifiesto la necesidad de continuar investigando el papel que desempeñan estas células en la replicación, persistencia viral y patogenia de la enfermedad (117). Una limitación de nuestra investigación es que no se empleó la sangre total como muestra, elemento a tener en cuenta en próximos estudios.

Dos Santos y cols., en 2020 y Arévalo y cols., en 2025 expresan que el diagnóstico empleando muestras de saliva y orina podría ser una opción eficaz, beneficioso en niños, embarazadas y pacientes con síndrome neurológico infeccioso, debido a que son muestras no invasivas y fáciles de colectar (76, 118). Diversos informes demuestran que el ARN de diferentes arbovirus como VDEN, (119) VZIK (120, 121) y virus del Nilo Occidental (VNO) (122) de la familia *Flaviviridae*, así como el VCHIK (123) de la familia *Togaviridae* pueden detectarse en orina y saliva. Algunos estudios describen que la orina podría

soportar cargas virales más altas que la sangre, y durante un período más prolongado y, a su vez, que la detección del genoma de arbovirus en este fluido podría estar asociada con una carga viral persistente después de la fase aguda de la enfermedad (119, 124).

Estudios desarrollados con VCHIK y VDEN muestran una tasa de detección significativamente menor cuando la orina se colectó durante los primeros días de la FIS, en comparación con las orinas colectadas durante la segunda semana de la enfermedad, lo que sugiere que este fluido podría emplearse en la detección de diferentes arbovirus, incluyendo a VORO, después de la fase aguda (119, 123). En un estudio realizado con el VZIK en Cuba en el año 2022 se evidenció que el empleo de muestras de orina es crucial para la detección de arbovirus en la fase convaleciente y que junto a la muestra de suero brindan una ventana más amplia de detección viral (125). Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los reportados en los estudios anteriores. Sin embargo, nuestra investigación no coincide con los resultados reportados por Nascimento en 2020 donde describe una mayor carga viral para VORO en la orina, con respecto al plasma y saliva en muestras colectadas de un paciente en los primeros cinco días de la enfermedad (126).

En 2021, en un estudio desarrollado por Nunes y cols en Brasil, se detectó ARN del VORO en ocho de 42 muestras de saliva (19,0%) colectadas en menos de 3 días de la FIS (100), nuestra investigación coincide con los resultados obtenidos en este estudio, mientras que Vita y cols., en 2025, reportan la detección del ARN del VORO en una muestra de saliva a los 10 días de la FIS (Ct 34) (127). Musso y cols. plantean que la saliva puede servir como una muestra alternativa en la detección de VCHIK durante la fase aguda de la enfermedad, con una positividad que varía del 58,3 al 77%, (102) mientras que nuestra investigación revela una positividad para VORO en este fluido del 50 al 80%.

IV.IV. Dinámica de detección del VORO en muestras seriadas de suero colectadas en un mismo paciente con infección confirmada

De los 149 pacientes con infección confirmada a VORO, se colectó una primera muestra de suero en todos los casos; una segunda muestra en 27, y una tercera en 5 de ellos, recogidas en días sucesivos de la evolución clínica.

En la figura 9 se presenta la variación del ciclo umbral según los días de evolución en cinco pacientes con infección confirmada a VORO de los cuales se colectaron tres muestras seriadas de suero.

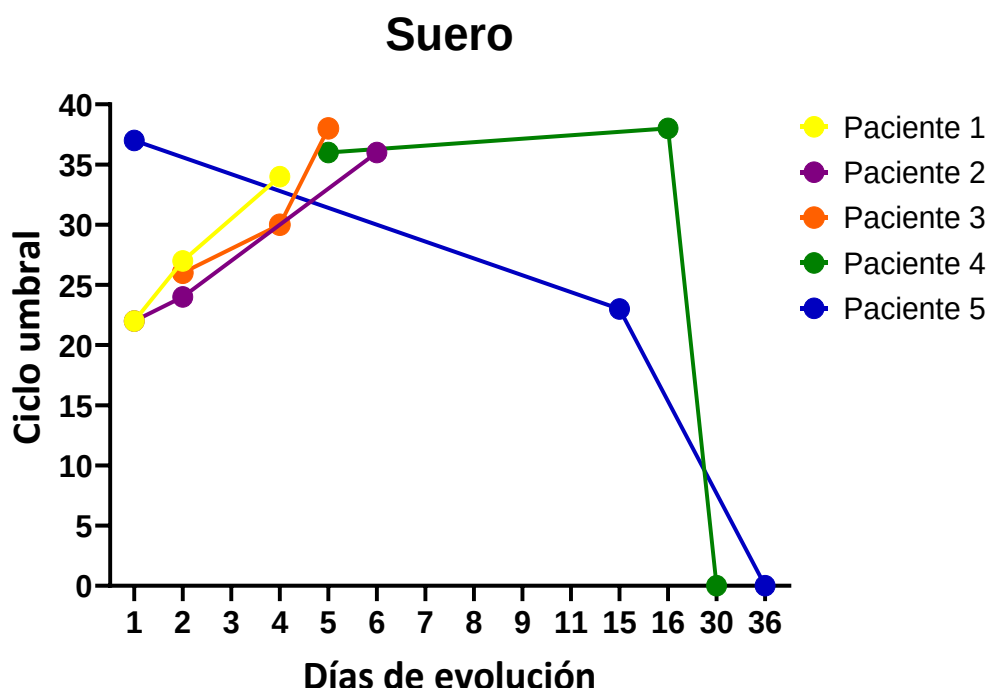


Figura 9. Variación del ciclo umbral según los días de evolución en cinco pacientes con infección confirmada a VORO de los cuales se colectaron tres muestras seriadas de suero.

La figura 9 resume la cinética de detección del VORO en cinco pacientes con infección confirmada, a quienes se les colectaron muestras seriadas de suero en días sucesivos de la evolución de la enfermedad. En los pacientes 1 al 3 se observó un incremento progresivo del valor de Ct en la segunda y tercera muestra colectada, en paralelo con el incremento de los días de evolución de la enfermedad. En el paciente 4 se mostró un incremento del valor del Ct en la segunda muestra y en la tercera no se detectó el genoma del virus. En el paciente 5, en la segunda muestra, coincidiendo con la recaída clínica de la enfermedad, se evidenció un valor de Ct menor que en la muestra colectada en la infección inicial (22,7 vs 35,7), sugiriendo una reactivación viral, y en la tercera muestra no se detectó amplificación del genoma del virus. En los 26 pacientes con 2 muestras de suero colectadas cinéticamente, la detección viral fue similar a la descrita en los pacientes 1 al 4 que se presenta en la figura 9.

Diversos autores han descrito que aproximadamente el 60% de los pacientes con infección por VORO experimentan recaídas clínicas (128). No obstante, hasta la fecha no se ha caracterizado la cinética virológica de estos episodios recurrentes y no existen evidencias que establezcan si, durante las recaídas, la viremia alcanza concentraciones superiores a las observadas en la infección inicial. En la bibliografía consultada no encontramos estudios que abarquen este tema.

IV.V. Discusión general

La FO es una arbovirosis endémica de la cuenca amazónica que afectó principalmente a poblaciones rurales y semiurbanas de Brasil hasta los años 80. En las últimas décadas, el VORO ha extendido su área de circulación, expandiéndose aceleradamente hacia zonas previamente no endémicas. La convergencia de factores como el cambio climático, la amplia movilidad humana y la elevada densidad de vectores del género *Culicoides*, propició la aparición de brotes epidémicos de gran magnitud en Colombia, Perú y Ecuador. La emergencia del VORO en 2024 quedó evidenciada por su detección en regiones con baja o nula circulación previa, como la República Dominicana, donde se documentó la circulación silenciosa, y Cuba, donde la epidemia ocurrida ese mismo año puso de manifiesto la notable capacidad adaptativa del virus a diversos entornos epidemiológicos.

En nuestro estudio, desarrollado entre julio y agosto de 2024, en pacientes procedentes de las provincias La Habana y Artemisa, se confirmó la infección por VORO en el 52,7% de los casos clínicamente sospechosos de FO; el 10,9% resultó positivo a VDEN y el 36,4% fue negativo a todos los arbovirus analizados. En el año 1977 se confirma etiológicamente la primera epidemia de dengue en Cuba (129) y, desde esa fecha hasta la actualidad se mantiene circulando en el país. Durante el período de estudio, no se reportaba circulación de otros arbovirus como VZIK y VCHIK. Además, el 1,6% de todos los casos confirmados a VORO presentaron coinfección con VDEN-3 y VDEN-4, los cuales eran los serotipos de VDEN que circulaban en La Habana y Artemisa durante el período estudiado.

La actual emergencia y reemergencia de arbovirus sigue siendo una amenaza para la salud mundial. La co-circulación de varios arbovirus en una misma área

geográfica y en un mismo período de tiempo, aumenta la frecuencia de coinfecciones en humanos y, a su vez, la posibilidad de desarrollar una enfermedad más grave. Además, la similitud en el cuadro clínico hace que el diagnóstico confirmatorio sea más complejo, lo que obliga la introducción de nuevos algoritmos diagnósticos y sistemas de PCR múltiples que permitan la detección de varios arbovirus a partir de una misma muestra clínica. Estas coinfecciones siguen siendo poco conocidas y aún quedan preguntas inconclusas sobre su efecto en la gravedad de la enfermedad, el virus dominante en la progresión clínica y la presencia viral en los fluidos biológicos, lo cual hace necesario desarrollar estudios dirigidos a investigar las implicaciones clínicas y patológicas de las mismas. Esto es particularmente cierto en el caso del VORO, que está significativamente menos estudiado en comparación con el VDENV (127, 130).

De los pacientes con infección confirmada a VORO solo se le pudo hacer seguimiento clínico al 31,5% y, de estos el 25,5% presentó recaídas clínicas de la enfermedad. Cuando comparamos los síntomas de los pacientes con seguimiento clínico que presentaron o no recaídas, no se observaron diferencias significativas entre los mismos, evidenciando una mayor incidencia de fiebre, cefalea, malestar general, astenia, mialgias, anorexia y artralgias, mientras que la frecuencia de síntomas fue mayor en los pacientes con recaídas, sugiriendo que las recurrencias ocasionadas por VORO pueden ser intensas y sintomáticamente complejas.

En el estudio se observó una mayor prevalencia del sexo femenino. En los pacientes sin recaídas se evidenció una mayor incidencia entre los 46 y 60 años con una mediana de 53 años, mientras que las recaídas se manifestaron mayormente entre los 18 y 35 años, con una mediana de 29 años. La bibliografía consultada plantea que los individuos en edad laboral tienen una mayor exposición al vector, debido a la movilidad de estos fuera de los hogares, donde habita comúnmente el vector de la enfermedad (107) y, mientras que algunos estudios reportan una frecuencia ligeramente mayor en mujeres, (103) otros lo evidencian en hombres, (112) lo cual refleja la influencia de diversos factores como la movilidad, factores sociológicos y sistema inmune del paciente, sobre el patrón de género.

En la investigación los pacientes presentaron comorbilidades, entre las más frecuentes destacaron la hipertensión arterial, el asma bronquial y la diabetes mellitus. Al comparar los porcentajes de comorbilidad de los pacientes estudiados con los reportados en el anuario estadístico de salud de la población cubana (131), fue llamativo que la HTA resultó significativamente mayor en ambos grupos, mientras que el AB, en los pacientes con recaídas clínica, duplicó el porcentaje reportado en el anuario estadístico. Teniendo en cuenta estos hallazgos y que las recaídas se presentaron mayormente en pacientes jóvenes con una diferencia de edad de casi la mitad con respecto a las no recaídas, en la presente investigación no podemos explicar la relación que pudieran tener estos hallazgos en la infección por VORO por lo que se requiere de otros estudios encaminados a este tema. Cabe destacar que a los pacientes estudiados también se les realizaron otras pruebas como exámenes complementarios de laboratorio clínico cuyos resultados no se incluyen en esta investigación porque forman parte de otros estudios clínicos.

En el diagnóstico molecular del VORO, la OPS recomienda la detección del genoma viral en muestras de suero y plasma colectados en los siete días posteriores a la FIS, etapa en la cual, la viremia alcanza elevados niveles ($\geq 10^6$ copias/mL) (77). En nuestro estudio, el suero resultó ser la muestra idónea para la detección del genoma del VORO en todas las etapas de la enfermedad, con una positividad del 91,0% dentro de los primeros seis días de la FIS. Además, el valor de Ct promedio en los diferentes rangos de días de evolución fue consistentemente menor en suero que en otros fluidos, lo cual refleja una mayor concentración viral y durante un tiempo más prolongado.

La saliva mostró una positividad del 64,3% durante la fase aguda, mientras que la orina osciló entre el 73,3 y 100% en la convalecencia. Aunque el suero es la muestra de elección, la saliva y la orina resultan útiles y se pueden emplear como muestras alternativas y complementarias al suero en el diagnóstico del VORO, principalmente en niños, embarazadas, adultos mayores que padecen de fragilidad capilar y pacientes con síndrome neurológico infeccioso. El conocimiento sobre la diseminación del VORO en diferentes fluidos biológicos, no solo permite esclarecer aspectos claves de la patogénesis de la enfermedad, sino también que permite optimizar estrategias diagnósticas con implicaciones en la vigilancia.

La detección del VORO en la orina durante la fase de convalecencia puede estar asociada con una carga viral persistente después de la fase aguda de la enfermedad. La detección del virus en saliva durante la fase aguda puede deberse a la estabilidad del virión ya que, aunque la saliva contiene RNasas, la actividad enzimática se reduce 5-10 veces durante la fiebre por deshidratación y disminución del flujo glandular (132). A pesar de que el genoma del VORO es detectable en saliva, no sabemos las implicaciones que tiene desde el punto de vista patogénico o si es posible la transmisión del mismo a través de este fluido, por lo que se requieren estudios para determinar la presencia de viriones infectivos e investigar el riesgo real de transmisión por esta vía. En la bibliografía consultada no encontramos estudios que indique la transmisión del VORO de persona a persona a través de la saliva.

En nuestra investigación, en una subpoblación de cinco pacientes con muestras seriadas de suero colectadas cinéticamente; el 92% (n=4) mostró una tendencia al incremento progresivo del valor de Ct o no detección del genoma del virus a medida que se incrementan los días de evolución de la enfermedad, mientras que el 8% (n=1) presentó un valor de Ct menor en la segunda muestra con respecto a la muestra colectada en la infección inicial, lo cual sugiere una reactivación viral. Dicho paciente experimentó una recaída clínica de la enfermedad. En el resto de los pacientes del estudio que presentaron recaídas clínicas, no fue posible colectar una segunda muestra lo cual no nos permitió analizar la viremia en estos episodios, por lo que se necesitan más estudios para esclarecer el comportamiento del VORO en los pacientes con recaídas clínicas.

El conocimiento de la cinética de detección del VORO en los diferentes tipos de muestras clínicas juega un papel fundamental en la vigilancia de Arbovirus realizada por los Sistemas Nacionales de Salud ya que determina el momento óptimo para la colección de las mismas brindando una mayor probabilidad diagnóstica y una ventana de detección más amplia en la identificación de casos sospechosos en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad. Esta información es indispensable para la definición de algoritmos diagnósticos y el diseño de estrategias ante la circulación de patógenos emergentes. Ampliar la cinética de detección viral permite una vigilancia integrada más efectiva, así como, el diagnóstico tardío de la infección.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

- ✓ Se confirma la infección por VORO en los pacientes estudiados y consecuentemente la transmisión viral en las provincias La Habana y Artemisa.
- ✓ El predominio del sexo femenino y el grupo etario de 46 a 60 años se corresponde con el total de casos confirmados en el país durante el período de estudio.
- ✓ La fiebre, la cefalea, el malestar general, la astenia, la mialgia, la artralgia y la anorexia fueron las características clínicas más frecuentes en los pacientes estudiados, similar a lo reportado en países endémicos de FO.
- ✓ El suero resultó ser la muestra clínica idónea para la detección del VORO en todas las etapas de la enfermedad, mientras que la saliva y la orina se pueden emplear como muestras alternativas que elevan la probabilidad diagnóstica y brindan una ventana mayor de detección viral.

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Recomendar en las pautas del diagnóstico molecular del VORO emplear muestras de suero, orina y saliva con el objetivo de lograr una mayor probabilidad diagnóstica y una mejor ventana de tiempo para la detección viral.
- ✓ Realizar estudios de infectividad viral para identificar la presencia de partículas infecciosas y determinar, con base científica, el riesgo real de transmisión a través de los fluidos biológicos analizados y su implicación en la patogenia de la enfermedad.
- ✓ Realizar estudios clínicos, virológicos e inmunológicos con un mayor número de pacientes con recaídas clínicas para profundizar en las causas de las mismas, e incluir, adicionalmente la colecta de muestras de sangre total para el diagnóstico confirmatorio de la enfermedad.

CAPÍTULO VII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramos MIC, Ricardo JLC, Segura YG. Fiebre del Oropouche, una nueva alerta epidemiológica para Cuba. Rev. habanera cienc. méd. [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 23:5753. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9649076>
2. Silva JWP. Vírus Oropouche: Epidemiologia, vetores e diagnóstico. Braz. J. Implantol. Health Sci. [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 6(7):10-2. Disponible en: <https://bjhs.emnuvens.com.br/bjhs/article/view/2434>
3. Almanza, E. D. Á. (2024). La fiebre de Oropouche en las Américas: un desafío emergente en salud pública. *Revista de Medicina Isla de la Juventud*, 25(1).
4. Da Rosa JFT, De Souza WM, de Paula Pinheiro F, Figueiredo ML, Cardoso JF, Acrani GO, et al. Oropouche virus: clinical, epidemiological, and molecular aspects of a neglected Orthobunyavirus. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2017 [citado 2026 ene. 7]; 96(5):1019. Disponible en: [doi: 10.4269/ajtmh.16-0672](https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0672).
5. Puerto FI, Dzul-Rosado KR, Ulloa-García A. La fiebre de Oropouche en América Latina: estrategias de prevención y control. Rev Biomed [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 7]; 35(3):97-9. Disponible en: [doi:10.32776/revbiomed.v35i3.1252](https://doi.org/10.32776/revbiomed.v35i3.1252)
6. Organización Mundial de la Salud. Alerta epidemiológica de Oropouche en la región de las Américas [Internet]. Ginebra: OMS; 2024 [citado 2026 ene. 7]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-oropouche-region-americas-13-diciembre-2024>
7. Wesselmann KM, Postigo-Hidalgo I, Pezzi L, de Oliveira-Filho EF, Fischer C, de Lamballerie X, et al. Emergence of Oropouche fever in Latin America: a narrative review. Lancet Infect Dis [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 24(7):e439-e452. Disponible en: [doi: 10.1016/S1473-3099\(23\)00740-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00740-5).
8. Organización Mundial de la Salud. Instrumento para el diagnóstico y la atención a pacientes con sospecha de arbovirosis [Internet]. Ginebra: OMS;

- 2016 [citado 2026 ene. 7]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/instrumento-para-diagnostico-atencion-pacientes-con-sospecha-arbovirosis-2016>
9. Martins-Filho PR, Soares-Neto RF, de Oliveira-Júnior JM, Dos Santos CA. The underdiagnosed threat of oropouche fever amidst dengue epidemics in Brazil. *Lancet Reg Health Am* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 19:32:100718. Disponible en: doi: 10.1016/j.lana.2024.100718.
 10. de Armas Fernández JR, Peña García CE, Acosta Herrera B, Betancourt Plaza I, Gutiérrez de la Cruz Y, Resik Aguirre S, et al. Report of an unusual association of Oropouche Fever with Guillain-Barré syndrome in Cuba, 2024. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 43(11):2233-7. Disponible en: doi: 10.1007/s10096-024-04941-5.
 11. Martins-Filho PR, Carvalho TA, Dos Santos CA. Oropouche fever: reports of vertical transmission and deaths in Brazil. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 24(11):e662-e663. Disponible en: doi: 10.1016/S1473-3099(24)00557-7.
 12. García MP, Merino NS, Figueroa D, Marcelo A, Tineo E, Manrique C, et al. Detección de la circulación del virus Oropouche en la región Madre de Dios, Perú, (diciembre 2015-enero 2016). *Rev. peru. med. exp. salud pública* [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 7]; 33:380-1. Disponible en: doi: 10.17843/rpmesp.2016.332.2098.
 13. Organización Mundial de la Salud. Alerta epidemiológica de Oropouche en la región de las Américas [Internet]. Ginebra: OMS; 2024 [citado 2026 ene. 7]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/actualizacion-epidemiologica-oropouche-region-americas-15-octubre-2024>
 14. Guerras JM, Estévez-Reboredo RM, Herrador-Ortiz Z, Fernández-Martínez B. La fiebre de Oropouche: ¿Una nueva amenaza para la Salud Global? *Boletín Epidemiológico Semanal* [Internet]. Centro Nacional de Epidemiología. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 32(3):121-4. Disponible en: doi: 10.4321/s2173-92772024000300002
 15. Benítez AJ, Alvarez M, Perez L, Gravier R, Serrano S, Hernandez DM, et al. Oropouche Fever, Cuba, May 2024. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 30(10):2155-9. Disponible en: doi: 10.3201/eid3010.24090016.

16. Ministerio de Salud Pública. Confirman presencia del virus de Oropouche en nueve provincias y 23 municipios de Cuba [Internet]. Cuba: MINSAP; 2024 [citado 2026 ene. 7]. Disponible en: <https://www.granma.cu/cuba/2024-06-25/confirman-presencia-del-virus-de-oropouche-en-nueve-provincias-y-23-municipios-de-cuba>
17. Anderson CR, Spence L, Downs WG, Aitken TH. Oropouche virus: a new human disease agent from Trinidad, West Indies. AJTMH [Internet]. 1961 [citado 2026 ene. 7]; 10(4): 574-8. Disponible en: doi.org/10.4269/ajtmh.1961.10.574.
18. Pinheiro FdP, Pinheiro M, Bensabath G, Causey O, Shope RE. Epidemia de vírus Oropouche em Belém. Revista de Serviço Especial de Saúde Pública. 1962; 12:15-23.
19. Nunes MRT, Martins LC, Rodriguez SG, Chiang JO, da Silva Azevedo RdS, Da Rosa APT, et al. Oropouche virus isolation, southeast Brazil. Emerg Infect Dis [Internet]. 2005 [citado 2026 ene. 7]; 11(10):1610–3. Disponible en: [doi: 10.3201/eid1110.050464](https://doi.org/10.3201/eid1110.050464)
20. Alvarez-Falconi PP, Ruiz BAR. Brote de fiebre de Oropouche en Bagazán, San Martín-Perú: evaluación epidemiológica, manifestaciones gastrointestinales y hemorrágicas. Rev. Gastroenterol [Internet]. Perú; 2010 [citado 2026 ene. 7]; 30-4: 334-40. Disponible en: <https://revistagastroperu.com/index.php/rgp/article/view/421>
21. Romero-Alvarez D, Escobar LE. Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. Microbes Infect [Internet]. 2018 [citado 2026 ene. 7]; 20(3):135-146. Disponible en: [doi: 10.1016/j.micinf.2017.11.013](https://doi.org/10.1016/j.micinf.2017.11.013)
22. Organización Mundial de la Salud. Enfermedad por el virus de Oropouche-Perú [Internet]. Ginebra: OMS; 2017 [citado 2026 ene. 7]. Disponible en: www.who.int/csr/don/03-june-2016-oropouche-peru/es/.
23. Forshey BM, Guevara C, Laguna-Torres VA, Cespedes M, Vargas J, Gianella A, et al. Arboviral etiologies of acute febrile illnesses in Western South America, 2000–2007. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2010 [citado 2026 ene. 7]; 4(8):e787. Disponible en: [doi: 10.1371/journal.pntd.0000787](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000787).
24. Manock SR, Jacobsen KH, de Bravo NB, Russell KL, Negrete M, Olson JG, et al. Etiology of acute undifferentiated febrile illness in the Amazon basin of

- Ecuador. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2009 Jul [citado 2026 ene. 7]; 81(1):146-51. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19556580/>
25. Mattar S, González M. Oropuche virus: A virus present but ignored. Rev.MVZ Cordoba [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 7]; 20(3):4675-6. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682015000300001&script=sci_arttext
26. Pinheiro FP, Travassos da Rosa A, Vasconcelos PFdC. Oropouche fever. Textbook of pediatric infectious diseases. 2004. p. 2418-23.
27. Zhang Y, Liu X, Wu Z, Feng S, Lu K, Zhu W, et al. Oropouche virus: A neglected global arboviral threat. Virus Res [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 341:199318. Disponible en: doi: 10.1016/j.virusres.2024.199318
28. Organización Mundial de Salud. Ministerio de Salud emite alerta epidemiológica por oropouche [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 7]. Disponible en: <https://presidencia.gob.do/noticias/ministerio-de-salud-emite-alerta-epidemiologica-por-oropouche2024>.
29. Panama. Ministerio de Salud Panama. Dirección General de Salud Pública. Oropouche en Panama. Boletín epidemiológico [Internet]. 2025 [citado 7 ene. 2026]; 1-6. Disponible en: https://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/publicacion-general/boletin_de_oropouche_panama_final_v5_de_18022025.pdf.
30. Files MA, Hansen CA, Herrera VC, Schindewolf C, Barrett AD, Beasley DW, et al. Baseline mapping of Oropouche virology, epidemiology, therapeutics, and vaccine research and development. NPJ Vaccines [Internet]. 2022 [citado 2026 ene. 7]; 7(1):38. Disponible en: doi: 10.1038/s41541-022-00456-2.
31. Elliott RM. Orthobunyaviruses: recent genetic and structural insights. Nat Rev Microbiol [Internet]. 2014 [citado 2026 ene. 7]; 12(10):673-85. Disponible en: doi: 10.1038/nrmicro3332.
32. Chowdhary R, Street C, Travassos da Rosa A, Nunes MR, Tee KK, Hutchison SK, et al. Genetic characterization of the Wyeomyia group of orthobunyaviruses and their phylogenetic relationships. J Gen Virol [Internet]. 2012 [citado 2026 ene. 7]; 93(Pt 5):1023-34. Disponible en: doi: 10.1099/vir.0.039479-0.

33. Cardoso BF, Serra OP, Heinen LBdS, Zuchi N, Souza VCd, Naveca FG, et al. Detection of Oropouche virus segment S in patients and in *Culex quinquefasciatus* in the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 7]; 110(6):745-54. Disponible en: doi: 10.1590/0074-02760150123
34. Mendoza-Landinez BF, Freyle-Roman IK, Rincón-Orozco B. Virus Oropouche, un arbovirus emergente en búsqueda de protagonismo en las Américas. *Rev. Univ. Ind. Santander* [Internet]. Salud. 2024 [citado 2026 ene. 7]; 56 e:24030. Disponible en: doi: doi.org/10.18273/saluduis.56.e:24030
35. Saeed MF, Wang H, Nunes M, Vasconcelos PF, Weaver SC, Shope RE, et al. Nucleotide sequences and phylogeny of the nucleocapsid gene of Oropouche virus. *J Gen Virol* [Internet]. 2000 [citado 2026 ene. 7]; 81(Pt 3):743-8. Disponible en: doi: 10.1099/0022-1317-81-3-743.
36. Lambert AJ, Lanciotti RS. Consensus amplification and novel multiplex sequencing method for S segment species identification of 47 viruses of the Orthobunyavirus, Phlebovirus, and Nairovirus genera of the family Bunyaviridae. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2009 [citado 2026 ene. 7]; 47(8):2398-404. Disponible en: doi: 10.1128/JCM.00182-09.
37. Aguilar PV, Barrett AD, Saeed MF, Watts DM, Russell K, Guevara C, et al. Iquitos virus: a novel reassortant Orthobunyavirus associated with human illness in Peru. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2011 [citado 2026 ene. 7]; 5(9):e1315. Disponible en: doi: 10.1371/journal.pntd.0001315.
38. Ladner JT, Savji N, Lofts L, Travassos da Rosa A, Wiley MR, Gestole MC, et al. Genomic and phylogenetic characterization of viruses included in the Manzanilla and Oropouche species complexes of the genus Orthobunyavirus, family Bunyaviridae. *J Gen Virol* [Internet]. 2014 [citado 2026 ene. 7]; 95(Pt 5):1055-1066. Disponible en: doi: 10.1099/vir.0.061309-0
39. Navarro J-C, Giambalvo D, Hernandez R, Auguste AJ, Tesh RB, Weaver SC, et al. Isolation of Madre de Dios Virus (Orthobunyavirus; Bunyaviridae), an Oropouche virus species reassortant, from a monkey in Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 7]; 95(2):328-38. Disponible en: doi: 10.4269/ajtmh.15-0679

40. Tilston-Lunel NL, Hughes J, Acrani GO, da Silva DE, Azevedo RS, Rodrigues SG, et al. Genetic analysis of members of the species Oropouche virus and identification of a novel M segment sequence. *J Gen Virol* [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 7]; 96(Pt 7):1636-50. Disponible en: doi: 10.1099/vir.0.000108
41. Saeed MF, Wang H, Suderman M, Beasley DW, da Rosa AT, Li L, et al. Jatobal virus is a reassortant containing the small RNA of Oropouche virus. *Virus Res* [Internet]. 2001 [citado 2026 ene. 7]; 77(1):25-30. Disponible en: doi: 10.1016/s0168-1702(01)00262-3.
42. Bergero PE, Ayala MM. Perfil: OROV. *South Health* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 7]; 2:e003-e. Disponible en: doi: 10.21142/SH-02-2025-e003.
43. Walsh CE, Robert MA, Christofferson RC. Observational characterization of the ecological and environmental features associated with the presence of Oropouche virus and the primary vector *Culicoides paraensis*: Data synthesis and systematic review. *Trop. Med. Infect. Dis* [Internet]. 2021 [citado 2026 ene. 8]; 6(3): 143. Disponible en: [doi: 10.3390/tropicalmed6030143](https://doi.org/10.3390/tropicalmed6030143)
44. Pinheiro FP, Travassos da Rosa AP, Travassos da Rosa JF. Oropouche virus. I. A review of clinical, epidemiological, and ecological findings. *Am J Trop Med Hyg*. 1981 Jan; 30(1):149-60.
45. Tesh RB. The Emerging Epidemiology of Venezuelan Hemorrhagic Fever and Oropouche Fever in Tropical South America a. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1994 [citado 2026 ene. 8]; 15:740:129-37. Disponible en: doi: 10.1111/j.1749-6632.1994.tb19863.x.
46. Hoch AL, Pinheiro FdP, Roberts DR, Gomez MdLC. Laboratory transmission of Oropouche virus by *Culex quinquefasciatus* Say. *Bull Pan Am Health Organ*. 1987; 21(1):55-61.
47. Figueiredo L. Brazilian viruses in the family Bunyaviridae. *Rev Medicina-Ribeirão Preto*. 1999; 32:154-8.
48. Sakkas H, Bozidis P, Franks A, Papadopoulou C. Oropouche fever: a review. *Viruses* [Internet]. 2018 [citado 2026 ene. 8]; 10(4):175. Disponible en: doi: 10.3390/v10040175.
49. Pinheiro FP, Travassos da Rosa AP, Gomes ML, LeDuc JW, Hoch AL. Transmission of Oropouche virus from man to hamster by the midge

- Culicoides paraensis. Science [Internet]. 1982 [citado 2026 ene. 8]; 215(4537):1251-3. Disponible en: doi: 10.1126/science.6800036.
50. Ayala MM, Diaz MF, Spinelli GR, Micieli MV, Ronderos MM. Redescription of immature stages of Culicoides paraensis (Goeldi) (Diptera: Ceratopogonidae), vector of the Oropouche virus. Zootaxa [Internet]. 2022 [citado 2026 ene. 8]; 5205(3):249-264. Disponible en: doi: 10.11646/zootaxa.5205.3.4.
51. Carpenter S, Groschup MH, Garros C, Felipe-Bauer ML, Purse BV. Culicoides biting midges, arboviruses and public health in Europe. Antiviral Res [Internet]. 2013 [citado 2026 ene. 8]; 100(1):102-13. Disponible en: doi: 10.1016/j.antiviral.2013.07.020.
52. Mellor PS, Boorman J, Baylis M. Culicoides biting midges: their role as arbovirus vectors. Annu Rev Entomol [Internet]. 2000 [citado 2026 ene. 8]; 45:307-40. Disponible en: doi: 10.1146/annurev.ento.45.1.307.
53. Hoch A, Roberts D, Pinheiro F. Host-seeking behavior and seasonal abundance of Culicoides paraensis (Diptera: Ceratopogonidae) in Brazil. Am Mosq Control Assoc [Internet]. 1990 Mar [citado 2026 ene. 8]; 6(1):110-4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2324715/>
54. Vasconcelos PFdC, Travassos da Rosa JFS, Guerreiro SC, Dégallier N, Travassos da Rosa ES, Travassos da Rosa APdA. Primeiro registro de epidemias causadas pelo vírus Oropouche nos estados do Maranhão e Goiás, Brasil. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo [Internet]. 1989 [citado 2026 ene. 8]; 31 (4). Disponible en: doi: 10.1590/S0036-46651989000400011.
55. Bhattacharya S, Basu P, Sajal Bhattacharya C. The southern house mosquito, Culex quinquefasciatus: profile of a smart vector. J Entomol Zool Stud [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 8]; 4(2):73-81. Disponible en: <https://www.entomoljournal.com/search/?q=The+southern+house+mosquito%2C+Culex+quinquefasciatus%3A+profile+of+a+smart+vector>
56. Salazar MJ, Moncada LI. Ciclo de vida de Culex quinquefasciatus Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. Biomédica [Internet]. 2004 [citado 2026 ene. 8]; 24(4):385-92. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572004000400007

57. Samy AM, Elaagip AH, Kenawy MA, Ayres CF, Peterson AT, Soliman DE. Climate change influences on the global potential distribution of the mosquito *Culex quinquefasciatus*, vector of West Nile virus and lymphatic filariasis. PloS one [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 8]; 11(10):e0163863. Disponible en: doi: 10.1371/journal.pone.0163863
58. Cobar O, Cobar S. Enfermedad del Oropuche, la Pandemia Mundial de 2025? [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 9]. Disponible en: doi: 10.13140/RG.2.2.29518.37443
59. Romero-Alvarez D, Escobar LE. Vegetation loss and the 2016 Oropouche fever outbreak in Peru. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2017 [citado 2026 ene. 8]; 112(4):292–8. Disponible en: doi: 10.1590/0074-02760160415.
60. Vasconcelos HB, Azevedo RS, Casseb SM, Nunes-Neto JP, Chiang JO, Cantuária PC, et al. Oropouche fever epidemic in Northern Brazil: epidemiology and molecular characterization of isolates. J Clin Virol [Internet]. 2009 [citado 2026 ene. 8]; 44(2):129-33. Disponible en: doi: 10.1016/j.jcv.2008.11.006.
61. LeDuc JW, Pinheiro FP. Oropouche fever. The Arboviruses: CRC Press; 2019.
62. da Silva Azevedo RdS, Nunes MRT, Chiang JO, Bensabath G, Vasconcelos HB, das Neves Pinto AY, et al. Reemergence of Oropouche fever, northern Brazil. Emerg Infect Dis [Internet]. 2007 [citado 2026 ene. 8]; 13(6):912-5. Disponible en: doi: 10.3201/eid1306.061114.
63. Baisley KJ, Watts DM, Munstermann LE, Wilson ML. Epidemiology of endemic Oropouche virus transmission in upper Amazonian Peru. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 1998 [citado 2026 ene. 8]; 59(5):710-6. Disponible en: doi: 10.4269/ajtmh.1998.59.710.
64. Jin C, Li D. Pathogenesis of emerging and novel bunyaviruses in humans. En: Singh SK, editor. Human Emerging and Re-emerging Infections: Viral and Parasitic Infections. Canada: Wiley Logo; 2015. P. 43-71.
65. Porwal S, Malviya R, Sridhar SB, Shareef J, Wadhwa T. Mysterious Oropouche virus: transmission, symptoms, and control. Infect Med (Beijing) [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 7]; 4(5):100177. Disponible en: doi: 10.1016/j.imj.2025.100177.

66. Rodrigues AH, Santos RI, Arisi GM, Bernardes ES, Silva ML, Rossi MA, et al. Oropouche virus experimental infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Virus Res* [Internet]. 2011 [citado 2026 ene. 7]; 155(1):35-41. Disponible en: doi: 10.1016/j.virusres.2010.08.009
67. Santos RI, Almeida MF, Paula FE, Rodrigues AH, Saranzo AM, Paula AE, et al. Experimental infection of suckling mice by subcutaneous inoculation with Oropouche virus. *Virus Res* [Internet]. 2012 [citado 2026 ene. 7]; 170(1-2):25-33. Disponible en: doi: 10.1016/j.virusres.2012.07.006.
68. da Silva Menegatto MB, Ferraz AC, Lima RLS, Almeida LT, de Brito RCF, Reis AB, et al. Oropouche virus infection induces ROS production and oxidative stress in liver and spleen of mice. *J Gen Virol* [Internet]. 2023 [citado 2026 ene. 7]; 104(5). Disponible en: doi: 10.1099/jgv.0.001857.
69. Almeida GM, Souza JP, Mendes ND, Pontelli MC, Pinheiro NR, Nogueira GO, et al. Neural infection by oropouche virus in adult human brain slices induces an inflammatory and toxic response. *Front Neurosci* [Internet]. 2021 [citado 2026 ene. 7]; 15:674576. Disponible en: doi: 10.3389/fnins.2021.674576.
70. Alvarez-Falconi PP, Ruiz R. Oropouche fever outbreak in Bagazan, San Martin, Peru: epidemiological evaluation, gastrointestinal and hemorrhagic manifestations. *Rev Gastroenterol Peru* [Internet]. 2010 Oct-Dec [citado 2026 ene. 7]; 30(4):334-40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21263761/>
71. de Armas Fernández JR, García CEP, Herrera BA, García FD, Plaza IB, Carmenates IO, et al. Incidence of Guillain–Barré syndrome in Cuba before and during the Oropouche virus emergency, 2018–2024. *J Neurol* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 7]; 272(2):164. Disponible en: doi: 10.1007/s00415-025-12908-5.
72. Scachetti GC, Forato J, Claro IM, Hua X, Salgado BB, Vieira A, et al. Re-emergence of Oropouche virus between 2023 and 2024 in Brazil: an observational epidemiological study. *Lancet Infect* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 8]; 25(2): 166-75. Disponible en: doi: 10.1101/2024.07.27.24310296.

73. Pereira MR. Oropouche virus disease—region of the Americas. *Am. J. Transplant.* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 8]; 25(4):644-5. Disponible en: [https://www.amitransplant.org/article/S1600-6135\(25\)00049-8/fulltext](https://www.amitransplant.org/article/S1600-6135(25)00049-8/fulltext)
74. Chiang JO, Azevedo RS, Justino MC, Matos HJ, Cabeça HL, Silva SP, et al. Neurological disease caused by Oropouche virus in northern Brazil: should it be included in the scope of clinical neurological diseases? *J Neurovirol* [Internet]. 2021 [citado 2026 ene. 8]; 27(4):626-630. Disponible en: doi: 10.1007/s13365-021-00987-9.
75. de Souza Bastos M, Figueiredo LTM, Naveca FG, Monte RL, Lessa N, de Figueiredo RMP, et al. Identification of Oropouche Orthobunyavirus in the cerebrospinal fluid of three patients in the Amazonas, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 2012 [citado 2026 ene. 8]; 86(4): 732-5. Disponible en: doi: 10.4269/ajtmh.2012.11-0485.
76. dos Santos Fonseca LM, Carvalho RH, Bandeira AC, Sardi SI, Campos GS. Oropouche virus detection in febrile patients' saliva and urine samples in Salvador, Bahia, Brazil. *Jpn J Infect Dis* [Internet]. 2020 [citado 2026 ene. 8]; 73(2):164-165. Disponible en: doi: 10.7883/yoken.JJID.2019.296.
77. Organización Mundial de la Salud. Guidelines for the detection and surveillance of emerging arboviruses in the context of the circulation of other arboviruses [Internet]. Ginebra: OMS; 2024 [citado 2026 ene. 8]. Disponible en: <https://www.paho.org/en/documents/guidelines-detection-and-surveillance-emerging-arboviruses-context-circulation-other>
78. Castilletti C, Huits R, Mantovani RP, Accordini S, Alladio F, Gobbi F. Replication-competent Oropouche virus in semen of traveler returning to Italy from Cuba, 2024. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 8]; 30(12):2684-6. Disponible en: doi: 10.3201/eid3012.241470.
79. Ribas Freitas AR, Schwartz DA, Lima Neto AS, Rodrigues R, Cavalcanti LPG, Alarcón-Elbal PM. Oropouche Virus (OROV): expanding threats, shifting patterns, and the urgent need for collaborative research in Latin America. *Viruses* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 8]; 17(3):353. Disponible en: doi: 10.3390/v17030353.
80. Pastula DM, Beckham JD, Tyler KL. Oropouche virus: an emerging neuroinvasive arbovirus. *Ann Neurol* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 8]; 19:10.1002/ana.27139. Disponible en: doi: 10.1002/ana.27139.

81. Moreli ML, Aquino VH, Cruz ACR, Figueiredo LTM. Diagnosis of Oropouche virus infection by RT-nested-PCR. *J Med Virol* [Internet]. 2002 [citado 2026 ene. 8]; 66(1):139-42. Disponible en: doi: 10.1002/jmv.2122.
82. de Lima RC, Dias HG, de Souza TMA, Familiar-Macedo D, Ribeiro EDA, Corrêa VCe, et al. Oropouche virus exposure in febrile patients during chikungunya virus introduction in the state of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Pathogens* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 8]; 13(6):469. Disponible en: doi: 10.3390/pathogens13060469.
83. Muzammil K, Rayyani S, Abbas Sahib A, Gholizadeh O, Naji Sameer H, Jwad Kazem T, et al. Recent advances in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus detection, treatment, and vaccination: overview of current status and challenges. *Biol Proced Online* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 8]; 26(1):20. Disponible en: doi: 10.1186/s12575-024-00244-3
84. Wernike K, Aebischer A, Sick F, Szillat KP, Beer M. Differentiation of antibodies against selected simbu serogroup viruses by a glycoprotein Gc-based triplex ELISA. *Vet Sci* [Internet]. 2021 [citado 2026 ene. 8]; 8(1):12. Disponible en: doi: 10.3390/vetsci8010012
85. Kinney RM, Calisher CH. Antigenic relationships among Simbu serogroup (Bunyaviridae) viruses. *Am J Trop Med Hyg* [Internet]. 1981; 30(6):1307-18.
86. Prieto VR, Sánchez-Vizcaíno JM, Visavet C. El virus de Schmallenberg. *Profesión veterinaria*. 2012; 17(77):22-34.
87. Dietrich VC, Costa JMC, Oliveira MMGL, Aguiar CEO, de Oliveira Silva LG, Luz MS, et al. Pathogenesis and clinical management of arboviral diseases. *World J Virol* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 8]; 14(1):100489. Disponible en: doi: 10.5501/wjv.v14.i1.100489.
88. Livonesi MC, de Sousa RLM, Badra SJ, Figueiredo LTM. In vitro and in vivo studies of the Interferon-alpha action on distinct Orthobunyavirus. *Antiviral Res* [Internet]. 2007 [citado 2026 ene. 8]; 75(2):121-8. Disponible en: doi: 10.1016/j.antiviral.2007.01.158.
89. dos Santos Peinado R, Saivish MV, de Lima Menezes G, Fulco UL, da Silva RA, Korostov K, et al. The search for an antiviral lead molecule to combat the neglected emerging Oropouche virus. *Curr Res Microb Sci* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 8]; 6:100238. Disponible en: doi: 10.1016/j.crmicr.2024.100238

90. Saivish MV, de Lima Menezes G, da Silva RA, de Assis LR, da Silva Teixeira I, Fulco UL, et al. Acridones as promising drug candidates against Oropouche virus. *Curr Res Microb Sci* [Internet]. 2023 [citado 2026 ene. 8]; 6:100217. Disponible en: doi: 10.1016/j.crmicr.2023.100217.
91. González M, Alarcón-Elbal PM, Valle-Mora J, Goldarazena A. Comparison of different light sources for trapping *Culicoides* biting midges, mosquitoes and other dipterans. *Vet Parasitol* [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 8]; 226: 44-9. Disponible en: doi: 10.1016/j.vetpar.2016.06.020
92. Stubbs SH, Cornejo Pontelli M, Mishra N, Zhou C, de Paula Souza J, Mendes Viana RM, et al. Vesicular stomatitis virus chimeras expressing the Oropouche virus glycoproteins elicit protective immune responses in mice. *mBio* [Internet]. 2021 [citado 2026 ene. 8]; 12(4):e0046321. Disponible en: doi: 10.1128/mBio.00463-21
93. Pérez YM, Ibáñez AC, Díaz ZM, Acosta EC, González MS, García NC, et al. First report of *Culicoides paraensis* (Goeldi, 1905) (Diptera: Ceratopogonidae) in Cuba: A new challenge for public health. *Parasite Epidemiol Control* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 8]; 29:e00423. Disponible en: <https://temas.sld.cu/oropouche/2025/04/14/primer-reporte-de-culicoides-paraensis-goeldi-1905-diptera-ceratopogonidae-en-cuba-un-nuevo-reto-para-la-salud-publica/>
94. Naveca FG, Nascimento VAd, Souza VCd, Nunes BTD, Rodrigues DSG, Vasconcelos PFdC. Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2017 [citado 2026 ene. 8]; 112(7):510-3. Disponible en: doi: 10.1590/0074-02760160062.
95. Santiago GA, Vázquez J, Courtney S, Matías KY, Andersen LE, Colón C, et al. Performance of the Trioplex real-time RT-PCR assay for detection of Zika, dengue, and chikungunya viruses. *Nat commun* [Internet]. 2018 [citado 2026 ene. 9]; 9(1):1391. Disponible en: doi: 10.1038/s41467-018-03772-1
96. Santiago GA, Vergne E, Quiles Y, Cosme J, Vazquez J, Medina JF, et al. Analytical and clinical performance of the CDC real time RT-PCR assay for detection and typing of dengue virus. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2013 [citado 2026 ene. 9]; 7(7):e2311. Disponible en: doi: 10.1371/journal.pntd.0002311

97. de Oliveira E, Azevedo RdSS, Coelho-dos-Reis JG, Antonelli LRdV, Ferreira MS, Campi-Azevedo AC, et al. IFN- α as a time-sensitive biomarker during Oropouche virus infection in early and late seroconverters. *Sci Rep* [Internet]. 2019 [citado 2026 ene. 9]; 9(1):17924. Disponible en: doi: 10.1038/s41598-019-54223-w
98. Schwarz MM, Price DA, Ganaie SS, Feng A, Mishra N, Hoehl RM, et al. Oropouche orthobunyavirus infection is mediated by the cellular host factor Lrp1. *Proc. Nat. Acad. Sci* [Internet]. 2022 [citado 2026 ene. 9]; 119(33):e2204706119. Disponible en: doi: <https://doi.org/10.1101/2022.02.26.482111>
99. Weidmann M, Rudaz V, Nunes MR, Vasconcelos PF, Hufert FT. Rapid detection of human pathogenic orthobunyaviruses. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2003 [citado 2026 ene. 9]; 41(7):3299-305. Disponible en: doi: 10.1128/JCM.41.7.3299-3305.2003.
100. Nunes MRT, de Souza WM, Savji N, Figueiredo ML, Cardoso JF, da Silva SP, et al. Oropouche orthobunyavirus: Genetic characterization of full-length genomes and development of molecular methods to discriminate natural reassortments. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2019 [citado 2026 ene. 9]; 68:16-22. Disponible en: doi: 10.1016/j.meegid.2018.11.020
101. Barzon L, Pacenti M, Berto A, Sinigaglia A, Franchin E, Lavezzo E, et al. Isolation of infectious Zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. *Euro Surveill* [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 9]; 21(10):30159. Disponible en: doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.10.30159
102. Musso D, Teissier A, Rouault E, Teururai S, de Pina J-J, Nhan T-X. Detection of chikungunya virus in saliva and urine. *Virol J*. [Internet]. 2016 [citado 2026 ene. 9]; 13:102. Disponible en: doi: 10.1186/s12985-016-0556-9
103. Ciuoderis KA, Berg MG, Perez LJ, Hadji A, Perez-Restrepo LS, Aristizabal LC, et al. Oropouche virus as an emerging cause of acute febrile illness in Colombia. *Emerg Microbes Infect* [Internet]. 2022 [citado 2026 ene. 9]; 11(1):2645-57. Disponible en: doi: 10.1080/22221751.2022.2136536.
104. Martins-Luna J, del Valle-Mendoza J, Silva-Caso W, Sandoval I, Del Valle LJ, Palomares-Reyes C, et al. Oropouche infection a neglected

- arbovirus in patients with acute febrile illness from the Peruvian coast. BMC Res Notes [Internet]. 2020 [citado 2026 ene. 9]; 13(1):67. Disponible en: doi: 10.1186/s13104-020-4937-1.
105. Colavita F, Carletti F, D'Abramo A, Nicastrì E, Maggi F. Prolonged detection of Oropouche virus RNA in whole blood samples. Lancet Infect Dis [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 9]; 25(1):e11-e12. Disponible en: doi: 10.1016/S1473-3099(24)00798-9
106. Durango Chavez HV. Desarrollo y validación de una regla de predicción clínica para diagnosticar la infección por el virus de Oropouche en pacientes con síndrome febril agudo [tesis de diploma]. Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC); 2022 [citado 2026 ene. 9]. Disponible en: <https://upc.aws.openrepository.com/handle/10757/659667>
107. Naveca FG, Pires de Almeida T, Souza V, Nascimento V, Silva D, Nascimento F, et al. Emergence of a novel reassortant Oropouche virus drives persistent outbreaks in the Brazilian Amazon region from 2022 to 2024 [Internet]. MedRxiv [Preprint]. 2024 [citado 2026 ene. 9]. 38p. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2024.07.23.24310415v1.full>
108. Mourão MPG, Bastos MS, Gimaque JBL, Mota BR, Souza GS, Grimmer GHN, et al. Oropouche fever outbreak, Manaus, Brazil, 2007–2008. Emerg Infect Dis [Internet]. 2009 [citado 2026 ene. 9]; 15(12):2063–2064. Disponible en: doi: 10.3201/eid1512.09091
109. Gómez-Camargo DE, Egurrola-Pedraza JA, Cruz CD, Popuche D, Ochoa-Díaz MM, Guevara C, et al. Evidence of Oropouche orthobunyavirus infection, Colombia, 2017. Emerg Infect Dis [Internet]. 2021 [citado 2026 ene. 9]; 27(6):1756–8. Disponible en: doi: 10.3201/eid2706.204405
110. Carvalho VL, Azevedo RS, Carvalho VL, Azevedo RS, Henriques DF, Cruz ACR, et al. Arbovirus outbreak in a rural region of the Brazilian Amazon. J Clin Virol [Internet]. 2022 [citado 2026 ene 9]; 151:105155. Disponible en: doi: 10.1016/j.jcv.2022.105155.
111. Gourjault C, Pezzi L, Doudier B, Minodier P, Klitting R, Cano P, et al. Persistence of Oropouche virus in body fluids among imported cases in France, 2024. Lancet Infect Dis [Interent]. 2025 [citado 2026 ene. 9]; 25(2):e64-e65. Disponible en: doi: 10.1016/S1473-3099(24)00815-6.

112. Usuga J, Limonta D, Perez-Restrepo LS, Ciuoderis KA, Moreno I, Arevalo A, et al. Co-circulation of 2 Oropouche virus lineages, Amazon basin, Colombia, 2024. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 9]; 30(11):2375-80. Disponible en: doi: 10.3201/eid3011.240405
113. Silva-Caso W, Aguilar-Luis MA, Palomares-Reyes C, Mazulis F, Weillg C, Del Valle LJ, et al. First outbreak of Oropouche Fever reported in a non-endemic western region of the Peruvian Amazon: Molecular diagnosis and clinical characteristics. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2019 [citado 2026 ene. 9]; 83: 139-44. Disponible en: doi: 10.1016/j.ijid.2019.04.011.
114. Vernal S, Martini CC, da Fonseca BA. Oropouche virus–associated aseptic meningoencephalitis, Southeastern Brazil. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2019 [citado 2026 ene. 9]; 25(2):380-382. Disponible en: doi: 10.3201/eid2502.181189.
115. Sepúlveda LMZ, Urrego JFG, Hernández JPR. Fiebre de Oropouche: Una enfermedad desatendida que está generando alertas. *Revista Pediátrica de Panamá*. 2025:6-16.
116. Rossini G, Mola B, Rampini A, Ortalli M, Mattei G, Lazzarotto T. Virological findings in a case of travel-associated Oropouche virus (OROV) infection imported to Italy, June 2024. *Travel Med Infect Dis* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 9]; 66:102874. Disponible en: doi: 10.1016/j.tmaid.2025.102874.
117. de Souza Luna LK, Rodrigues AH, Santos RIM, Sesti-Costa R, Criado MF, Martins RB, et al. Oropouche virus is detected in peripheral blood leukocytes from patients. *J Med Virol* [Internet]. 2017 [citado 2026 ene. 9]; 89(6):1108-1111. Disponible en: doi: 10.1002/jmv.24722.
118. Arévalo BM. Importancia de los criterios de selección en el diagnóstico de Oropouche. *Portal de Revista| Visión 360*. 2025;4(1):1-2.
119. Hirayama T, Mizuno Y, Takeshita N, Kotaki A, Tajima S, Omatsu T, et al. Detection of dengue virus genome in urine by real-time reverse transcriptase PCR: a laboratory diagnostic method useful after disappearance of the genome in serum. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2012 [citado 2026 ene. 9]; 50(6):2047-52. Disponible en: doi: 10.1128/JCM.06557-11.

120. Musso D, Roche C, Nhan T-X, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau V-M. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol* [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 9]; 68:53-5. Disponible en: doi: 10.1016/j.jcv.2015.04.021.
121. Gourinat A-C, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 9]; 21(1):84-6. Disponible en: doi: 10.3201/eid2101.140894.
122. Barzon L, Pacenti M, Franchin E, Pagni S, Martello T, Cattai M, et al. Excretion of West Nile virus in urine during acute infection. *J Infect Dis* [Internet]. 2013 [citado 2026 ene. 9]; 208(7):1086-92. Disponible en: doi: 10.1093/infdis/jit290.
123. Gardner J, Rudd PA, Prow NA, Belarbi E, Roques P, Larcher T, et al. Infectious chikungunya virus in the saliva of mice, monkeys and humans. *PLoS One* [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 9]; 10(10):e0139481. Disponible en: doi: 10.1371/journal.pone.0139481.
124. Andries A-C, Duong V, Ly S, Cappelle J, Kim KS, Lorn Try P, et al. Value of routine dengue diagnostic tests in urine and saliva specimens. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2015 [citado 2026 ene. 9]; 9(9):e0004100. Disponible en: doi: 10.1371/journal.pntd.0004100.
125. Veitía Villar AY, Duque Vizcaíno M, Gravier Hernández R, González Rubio D, Castro Peraza O. Características clínicas de pacientes cubanos con infección por virus Zika. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2022;74(3).
126. Nascimento VAd, Santos JHA, Monteiro DCdS, Pessoa KP, Cardoso AJL, Souza VCd, et al. Oropouche virus detection in saliva and urine. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2020 [citado 2026 ene. 9]; 115:e190338. Disponible en: doi: 10.1590/0074-02760190338.
127. Vita S, Colavita F, Maffongelli G, Carletti F, Scorzolini L, Matusali G, et al. Viral shedding in saliva, axillary, rectal and vaginal swabs of an imported case of Dengue-Oropouche Virus co-infection. *Travel Med Infect Dis* [Internet]. 2025 [citado 2026 ene. 9]; 66:102854. Disponible en: doi: 10.1016/j.tmaid.2025.102854.
128. Freitas RB, Pinheiro FP, Santos MA, Travassos da Rosa A, Travassos da Rosa J, Freitas Ed. Epidemia de virus Oropouche no Leste do Estado do Pará, 1979. *Rev Fund SESP (Rio de J)*. 1980; 25(2):59-72.

129. Guzmán MG, Vázquez S, Álvarez M, Pelegrino JL, Amores DR, Martínez PA, et al. Vigilancia de laboratorio de dengue y otros arbovirus en Cuba, 1970-2017. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2019;71(1):1-31.
130. Rückert C, Weger-Lucarelli J, Garcia-Luna SM, Young MC, Byas AD, Murrieta RA, et al. Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. *Nat Commun* [Internet]. 2017 [citado 2026 ene. 9]; 8:15412. Disponible en: doi: 10.1038/ncomms15412.
131. Infomed. Anuario Estadístico de Salud 2024 [Internet]. Cuba: Centro Nacional de Ciencias Médicas; 2024 [citado 2026 ene. 10]. Disponible en: <https://temas.sld.cu/estadisticassalud/2025/09/30/anuario-estadistico-de-salud-2024/>
132. Oliveira Neto NFd, Caixeta RAV, Zerbinati RM, Zarpellon AC, Caetano MW, Pallos D, et al. The emergence of saliva as a diagnostic and prognostic tool for viral infections. *Viruses* [Internet]. 2024 [citado 2026 ene. 9]; 16(11):1759. Disponible en: doi: 10.3390/v16111759.

CAPÍTULO VIII

ANEXOS

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento informado

Título del estudio: *“Caracterización clínica epidemiológica y de laboratorio en pacientes adultos con diagnóstico de Fiebre Oropouche en el Hospital del IPK, 2024.”*

Responsables del Estudio: Dra. Isbbel Planells Ortiz; Dr. Arturo Hechavarría Martínez; Dr. Daniel González Rubio; Dr. Osvaldo Castro Peraza; MsC. Alina Martínez Rodríguez; Dra. Leidys García Vichot; Dr. Daniel Zalazar; MsC. Daymé Hernández Requejo.

Institución: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK), La Habana.

El IPK desarrollará un estudio en La Habana para Caracterizar clínica y humoralmente los casos de Fiebre Oropouche diagnosticados entre julio a octubre de 2024 en el Hospital del IPK.

En este documento le explicamos en qué consiste el estudio, donde lo invitamos a participar y consta de dos partes:

Parte I: Hoja informativa (para compartir información del estudio con Ud.)

Parte II: Firma del consentimiento (para su firma, si decide participar en el estudio)

Le será entregada una copia de ambos documentos.

Parte I: Hoja Informativa

Introducción: Lo invitamos a participar en un estudio de investigación llamada *“Caracterización clínica epidemiológica y de laboratorio en pacientes adultos con diagnóstico de Fiebre Oropouche en el Hospital del IPK, 2024.”* Antes de decidirse a ser parte de este estudio, es importante que usted entienda la información de este documento, porque explica sus derechos y nuestras responsabilidades para con usted. A continuación, le explicamos el estudio y a la vez le invitamos a formar parte de esta investigación. Este documento pudiera tener palabras que quizás no entienda, por favor siéntase libre de poder hacer cualquier pregunta relacionada con el estudio, antes de decidir su participación. Si surgiera alguna pregunta posteriormente, Ud. puede realizarla al responsable del estudio Dra. Isbbel Planells Ortiz; Dr. Arturo Hechavarría Martínez; Dr. Daniel González Rubio; Dr. Osvaldo Castro Peraza; Dra. Leydis García Vichot o a cualquier miembro del equipo.

Objetivos y descripción de la investigación: Se realizará un estudio transversal sobre las características clínicas y de laboratorio de los pacientes atendidos con diagnóstico de fiebre Oropouche en el hospital IPK en el mes de julio de 2024. Se recogerán los datos clínicos en una planilla de recolección de datos que luego serán insertados en los programas de procesamiento estadístico. Se tomará muestra para un hemograma inicial y para PCR-TR de virus Oropouche. En las siguientes consultas se les repetirá el hemograma y se le realizará química sanguínea para determinar valores de glicemia, creatinina, AST, ALT y GGT en la primera semana, a los 15, 21 y 30 días. También se harán estudios inmunológicos para evaluar

respuesta inflamatoria sistémica que incluyen: C3, C4, β 2 microglobulina y Proteína C reactiva, así como determinación de inmunocomplejos circulantes y anticuerpos antinucleares. Además, se realizarán determinaciones de PCR-TR en orina y en saliva, y en los casos en que sea por indicación médica en LCR.

Selección de los participantes: Usted ha sido seleccionado como participante potencial del estudio, pues ha ingresado con sospecha de dengue en el IPK.

Participación voluntaria: Su participación en esta investigación es enteramente voluntaria. Es su decisión participar o no en el estudio.

Procedimientos: Usted recibirá la atención que está protocolizada para los casos con sospecha de fiebre Oropouche (análisis de sangre para ver la evolución de parámetros hematológicos y hemoquímicos; estudios imaginológicos y otros). Se recogerán los datos clínicos previstos en la Historia Clínica individual. Si aceptara participar en el estudio, se le tomará una muestra de sangre en las primeras 24 horas de su atención hospitalaria que permitirá realizar estudios hematológicos, hemoquímicos y de PCR para confirmar el diagnóstico. Luego se le dará un seguimiento semanal donde tendrá una consulta y una batería de los análisis previamente dichos semanal. El seguimiento se hará durante 30 días para vigilar la evolución y las posibles complicaciones de la enfermedad.

Riesgos e incomodidades: Este estudio supone para los participantes un riesgo mínimo relacionado con la extracción de sangre. Se ha minimizado el número de extracciones y siempre se tratará de utilizar las muestras sobrantes de suero y sangre con anticoagulante de los estudios de laboratorio clínico que se les realicen como parte de su manejo médico. Las extracciones de sangre serán realizadas por un personal sanitario entrenado en estos procedimientos, de manera que el riesgo sea mínimo. El estudio no interferirá con la atención que Ud. recibe y el seguimiento por los profesionales de salud de su área.

Beneficios: Usted no recibirá incentivos para participar. Cada participante conocerá su estado clínico y de laboratorio.

Con este proyecto usted está accediendo a conocer con mayor exactitud las características serológicas y virológicas de la enfermedad, así como tendrá un estrecho seguimiento durante su evolución. Los resultados de este proyecto podrían también influir en el manejo del Dengue en Cuba y a desarrollar estrategias que permitan un mejor control de la enfermedad.

Confidencialidad: Los datos personales del paciente, así como, los datos clínicos generales y los de interés para la investigación, número de historia clínica y resultados de laboratorio, serán recogidos en una hoja de registro de observaciones para cada uno. El médico de asistencia tendrá en su poder las planillas. Posteriormente la información será introducida en una base de datos, a la que solo tendrá acceso el autor principal del trabajo, el responsable por la parte clínica y el estadístico, estará protegida por una clave y con compromiso de que los datos obtenidos de estos pacientes solo serán utilizados para este estudio. El médico también tendrá en su poder las cartas de consentimiento informado, las cuales deberán contener la firma de los pacientes una vez que las dudas acerca del estudio hayan sido esclarecidas y este de acuerdo en colaborar con el estudio.

Derechos de rechazar o abandonar el estudio: La participación en este estudio es voluntaria y Ud. no está obligado a participar. Si Ud. prefiere no participar esto no influirá en la atención médica y tratamiento que recibe. Además, Ud. puede retirarse del estudio en cualquier momento. Si tiene alguna duda sobre el estudio, por favor puede realizar todas las preguntas que desee.

Si Ud. tiene alguna otra pregunta, puede realizarla ahora o en cualquier otro momento. En ese caso pudiera contactar al responsable de este estudio.

Parte II: Firma del consentimiento.

Parte para el participante: Yo declaro que he sido informado sobre el estudio "*Caracterización clínica epidemiológica y de laboratorio en pacientes adultos con diagnóstico de Fiebre Oropouche en el Hospital del IPK, 2024.*" y que he recibido una copia del Consentimiento Informado. La información brindada ha sido explicada y leída para mí y comprendo los objetivos y procedimientos del estudio, donde los datos colectados serán utilizados solamente para los propósitos de esta investigación. He tenido la oportunidad de hacer cualquier pregunta sobre la investigación y de esclarecer adecuadamente cualquier duda surgida.

Yo consiento voluntariamente a participar en este estudio y comprendo que tengo el derecho de abandonar el estudio cuando lo estime conveniente, sin que cause algún perjuicio para mí.

Para constancia de lo expuesto anteriormente firmo este documento en: **Fecha:** día ____ mes ____ año 2024

Nombre y apellidos del participante:

Firma:

Parte para el investigador: He leído debidamente el formulario de consentimiento para el probable participante, y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado su consentimiento libremente.

Fecha: día ____ mes ____ año 2024

Firma:

Nombre y apellidos del Investigador:

Toda pregunta sobre el estudio puede dirigirse a los responsables clínicos del estudio: **Dra. Isbbel Planells Ortiz, Dr. Arturo Hechavarría Martínez**

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Autopista Novia del Mediodía Km 6½, La Lisa, La Habana 11300, Cuba

Tel: 7-255-3322



Parte para el participante: Yo declaro que he sido informado sobre el estudio "*Caracterización clínica epidemiológica y de laboratorio en pacientes adultos con diagnóstico de Fiebre Oropouche en el Hospital del IPK, 2024.*" y que he recibido una copia del Consentimiento Informado. La información

brindada ha sido explicada y leída para mí y comprendo los objetivos y procedimientos del estudio, donde los datos colectados serán utilizados solamente para los propósitos de esta investigación. He tenido la oportunidad de hacer cualquier pregunta sobre la investigación y de esclarecer adecuadamente cualquier duda surgida.

Yo consiento voluntariamente participar en este estudio y comprendo que tengo el derecho de abandonar el estudio cuando lo estime conveniente, sin que cause algún perjuicio para mí.

Para constancia de lo expuesto anteriormente firmo este documento en: **Fecha:** día ____ mes _____ año 2022

Nombre y apellidos del participante:

Firma:

Parte para el investigador: He leído debidamente el formulario de consentimiento para el probable participante, y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado su consentimiento libremente.

Fecha: día ____ mes _____ año 2024

Firma:

Nombre y apellidos del Investigador:

Anexo 2: Planilla de colección de datos de pacientes con sospecha clínica de FO.

Modelo de recolección de datos sobre muestras para diagnóstico microbiológico o envío de cepas para el trabajo de referencia nacional en el IPK.

1-Nombre(es)		Primer Apellido:		Segundo Apellido:		2-Carné de Identidad:		No.	
3- Dirección Particular:		4-Municipio:		5-Provincia:		6-Hist. Clínica:			
7-Edad:	8-Sexo: Masc. ☐ Fem. ☐	9-Ocupación		10-Color de la piel: Blanca ☐ Negra ☐ Amarilla ☐ Mestiza ☐		11-Días de ingreso			
12-Centro que Remite:		13-Sala		14-Municipio:		15-Provincia:		16-Fecha: Día Mes Año	
17-Diagnóstico Clínico:					18-Tipo de Muestra colectada:			19-APP:	
20-Fecha de comienzo de los Síntomas: Día Mes Año					Suero ☐ Sangre ☐			Enfermedad similar en la familia o comunidad:	
21-GENERALES:					LCR ☐ Humor acuoso ☐			SI ☐ NO ☐	
Fiebre ☐ Mialgia ☐ Cefalea ☐ Linfadenopatía ☐					Orina ☐ Líquido amniótico ☐			Historia de viajes al exterior:	
Malestar General ☐ Vómitos ☐ Rash ☐ Petequias ☐					Gargarismo ☐ Esputo ☐			SI ☐ NO ☐	
Diarreas ☐ Artralgia ☐ Esplenomegalia ☐					Heces ☐			País:	
Anorexia ☐ Ictero ☐ Hepatomegalia ☐					Exudado ☐ Cual _____			Fecha llegada al país:	
Astenia ☐ Escalofríos ☐ Sangramiento ☐					Tejido ☐ Cual _____			Día Mes Año	
Dolor abdominal ☐ Aumento de volumen de parótida ☐					**Lámina de:			Tratamiento Previo:	
IRA:					Cepa de:			SI ☐ NO ☐	
Tos ☐ Disnea ☐ Expectorcación ☐					Fecha colecta muestra:			Cuál(es):	
Laringitis ☐ Faringitis ☐ Rinorrea ☐					Día Mes Año			Antecedente de vacunación PRS	
Otitis ☐ Coqueluche ☐ Amigdalitis ☐					22-Estudio solicitado:			SI ☐ NO ☐	
Laringotraqueobronquitis ☐ Estornudos ☐					Diagnóstico ☐			Fecha:	
Vacunación anti-Influenza ☐					Referencia ☐			Día Mes Año	
SNC:					23-SUEROS PAREADOS				
Desorientación ☐ Rigidez nuchal ☐ Convulsiones ☐					Fecha de colecta:				
Pérdida de conciencia ☐ Trastornos de conducta ☐					1º Suero _____				
Dificultad en la marcha ☐					Día Mes Año				
ITS:					2º Suero _____				
Secreción Genital ☐ Lesión Genital ☐					Día Mes Año				
SEPSIS URINARIA: Disuria ☐					Confirmatorio ☐				
Otros: _____					(Dengue)				
					Referencia ☐				
24- Nombre del Facultativo:									
25- RESULTADOS									

Anexo 3: Planilla de colección de síntomas de pacientes con sospecha clínica de FO.

Nombre:	Edad	Color de la piel	Prov visitada últ 30 días:		FIS:
Municipio:	Sexo	HC:	Ocupación:	F. ingreso:	F. egreso:

Días	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Fiebre (T. máx.) °C																														
Escalofríos																														
Cefalea																														
Fotofobia																														
Inyección conjuntival																														
Astenia																														
Artralgias																														
Mialgias																														
Anorexia																														
Exantema																														
Adenopatías																														
Lipotimia																														
Sudoración profusa																														
Hepatomegalia																														
Esplenomegalia																														
Dolor abdominal																														
Ataxia																														
Epistaxis																														
Gingivorragia																														
Lumbalgia																														
Nauseas																														
Vómitos																														
Diarreas																														
Signos meníngeos																														
TAS (mmHg)																														
TAD (mmHg)																														
Vértigos																														
Nistagmos																														

Activar Windows
Vea la Configuración de Windows