



**Ministerio de Salud Pública
Instituto de medicina Tropical “Pedro Kourí”
Centro de Investigaciones, Diagnóstico y Referencia
Departamento de Virología**

Caracterización de la infección por virus dengue en niños, Hospital Pediátrico del Cerro, 2022

**Tesis para optar por el título de Máster en
Virología**

Autora: Lic. Denelsys Milagro Hernández La O

**La Habana
2026**



**Ministerio de Salud Pública
Instituto de medicina Tropical “Pedro Kourí”
Centro de Investigaciones, Diagnóstico y Referencia
Departamento de Virología**

Caracterización de la infección por virus dengue en niños, Hospital Pediátrico del Cerro, 2022

**Tesis para optar por el título de Máster en
Virología**

Autora: Lic. Denelsys Milagro Hernández La O

**Tutora: Prof. Mayling Álvarez Vera, Dr.C
Asesora: Prof. María G. Guzmán Tirado, DrCs**

**La Habana
2026**

“Nada en la vida debe temerse, solo debe ser entendida. Ahora es el momento de comprender más, para que podamos temer menos”

Marie Curie.

Premio Nobel en Química (1911) y Física (1903)



Dedicado a:

*Mis ángeles guardianes: mi abuelo Marcos y mi tío Silvestre, a mis
padres y a mami Eusebia.*

Agradecimientos

Esta tesis no es solo el resultado de investigación y esfuerzo académico, también es el reflejo de muchas personas que de una forma u otra me acompañaron en este camino que a veces se sintió como una montaña rusa de emociones.

Primero agradezco a mi familia, que, aunque no siempre entendían de que iba mi tesis, siempre entendieron de que iba yo: de nervios, de desvelos, de no puedo, tengo tesis. A mis padres por ser ese motor impulsor en todos mis sueños, gracias por dejar su tranquilidad en Manzanillo para adaptarse a una Habana convulsa, para que yo siguiera mis sueños. A mi tío Boris por creer en mí incluso cuando yo no lo hacía. A mi abuela, a mi tía Lazara, a mi tía Rosita, a mi tía Dania y a todos mis primos que desde la distancia siempre tuve su apoyo en este largo camino que es hacer ciencia. A mi novio Pablo que, aunque a mi vida llegó tarde, gracias por ser la calma que necesito, gracias por creer en mí y darme ánimos cuando ya no los tenía y gracias por soportar mis exigencias informáticas, te amo.

A la Dra Mayling por acogerme en el laboratorio de arbovirus aquel 6 de enero del 2023 y por ser guía en todo este proceso. A lo profe Lupe por su paciencia infinita, por sus devoluciones que me hicieron creer más de lo que imaginaba, por sus enseñanzas y por sus consejos oportunos. A la profe Sonia por acogerme como si fuera una hija más en el departamento de Virología, gracias por sus consejos y sus enseñanzas y por sus momentos de risas. Al profe Pelegrino y la profe Licel Rodríguez por su asesoramiento en mi carrera científica que recién comienza. A la profe Ana Beatriz por cada consejo y por acceder a ser la oponente de esta tesis. A Charito por cada aclaración de dudas y por cada consejo. Al comité académico y al claustro de profesores de la maestría en virología por cada consejo y enseñanza que contribuyeron a la realización de este trabajo de tesis. A cada padre que permitió que su hijo participara en el estudio y aportó su granito de arena a esta investigación.

En fin, a la familia IPK por acogerme en su seno, por apoyarme en todos los momentos y por su amable disposición.

También agradezco a mis amigos, los de siempre y los que conocí en este proceso. A mi Kiara y a mi Favi gracias por ser esos amigos que desde la distancia apoyan y por siempre darme ánimos. A Melissa y Anita por los ratos de tertulia y de risas cuando mi cerebro se quedaba en blanco, gracias por escucharme hasta el cansancio. Esta tesis también es un poco suya.

Y por último a quienes me recordaron que hacer una tesis no solo es escribir, sino aprender a escucharme, a dudar, a insistir y a confiar en que, aunque el camino sea incierto vale la pena recorrerlo.

Gracias a todos, son parte de esta tesis.

Resumen

El dengue es un problema de salud tanto en Cuba como en el mundo debido a su rápida expansión mundial y a la posible letalidad de la forma grave de la infección. En 2022 se evidenció un incremento en la transmisión de dengue en Cuba, sobre todo en el número de niños con dengue con signos de alarma y dengue grave por encima de lo observado en años precedentes. **Objetivo:** Determinar la relación entre el serotipo, el tipo de infección (primaria o secundaria) y las características sociodemográficas con la gravedad de la enfermedad en niños con dengue con signos de alarma o dengue grave hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro, 2022. **Metodología:** Estudio retrospectivo de 332 pacientes pediátricos con infección confirmada a dengue mediante RT-PCR y UMELISA IgM dengue plus, que presentaron signos de alarma o dengue grave. Se determinó, el serotipo infectante en los pacientes con menos de 5 días de evolución, los niveles de anticuerpos IgG para determinar si el paciente presentaba una infección primaria o secundaria mediante el Elisa de Inhibición en pacientes en etapa convaleciente temprana. **Resultados:** La infección por dengue se confirmó en 260 pacientes. Se detectaron los serotipos 1, 2, 3 siendo el serotipo 3 el más frecuente (85%). La infección secundaria ocurrió en 65.8% pacientes predominando por encima de la infección primaria. El grupo etario de cinco a nueve años fue donde más se desarrolló la infección secundaria y los signos de alarma. El 86,4% de los 59 pacientes con datos clínicos presentaron DCSA y el 13,5% DG. La infección secundaria se asoció significativamente con DCSA (OR=24,6, IC 95%: 8,4-62,4). Los signos de alarma más comunes fueron el dolor abdominal (61,2%), vómitos persistentes (55,3%) y acumulación clínica de líquidos (42,5%). El choque fue el signo de gravedad predominante (75%). **Conclusiones:** Los resultados ponen de manifiesto el carácter multifactorial del dengue.

Palabras claves: Dengue con signos de alarma, dengue grave, edades pediátricas, serotipo, infección secundaria, Cuba.

LISTADO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMO

ADE: amplificación dependiente de anticuerpos

AP61: línea celular del mosquito *Aedes pseudoscutellaris*

ARN: ácido ribonucleico

BHK1: línea celular de fibroblastos derivada de riñones de hámster sirio recién nacido

C: proteína de cápside

C6/36: línea celular de mosquito *Aedes albopictus*

C6/36HT: línea celular modificada de mosquito *Aedes albopictus*

CD 107: linfocitos T 107

CD4+: linfocitos T 4

CD8+: linfocitos T 8

CDC: Centro para el control y la prevención de enfermedades (CDC, del inglés Centers for Disease Control and Prevention)

CLA-HT: línea celular de mosquito *Aedes pseudoscutellaris*

CMH: complejo de histocompatibilidad

Ct: ciclo umbral (Ct, del inglés *Cycle Threshold*)

DCSA: dengue con signos de alarma

DG: dengue grave

E: proteína de envoltura

ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA del inglés *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*)

FcγRr: Receptor Fcγ

FD: fiebre del dengue

FDA: Agencia de drogas y alimentos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*)

FHD: fiebre hemorrágica de dengue

IFN-I: interferón tipo 1

IFN-γ: interferón gamma

IgG: inmunoglobulina G

IgM: inmunoglobulina M

IL-12: interleuquina 12

IL-18: interleuquina 18

IPK: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”

kDa: kilo Dalton

LLCMK2: línea celular de origen renal de mono *Rhesus*

LNR: laboratorio Nacional de Referencia

M: proteína de membrana

MAC-ELISA: ensayo inmunoabsorbente Ligado a Enzimas para la captura de IgM

MEI-ELISA: ensayo inmunoabsorbente Ligado a Enzimas de Inhibición

nAbs: anticuerpos neutralizantes

NK: NK, del inglés células natural killer encargadas de la defensa frente a infecciones virales y eliminación de células tumorales

NS1: proteína no estructural 1

NS2: proteína no estructural 2

NS3: proteína no estructural 3

NS4: proteína no estructural 4

NS5: proteína no estructural 5

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

OR: odd ratio

ORF: marco de lectura abierto

PCR: reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, del inglés: Polymerase Chain Reaction)

PrM/M: proteína precursora de membrana

PRNT: Prueba de Neutralización por Reducción del número de Placas

PRR: receptores de reconocimiento de patrones

RELDA: Red de Laboratorios para el Diagnóstico de Arbovirus

RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa

S: proteína Spike

SARS-Cov-2: síndrome respiratorio agudo severo-coronavirus 2 (SARS-Cov-2, del inglés severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)

SCD: Síndrome de choque por dengue

Th1: linfocitos T cooperadores tipo 1

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

Tra-284: Línea celular de mosquito *Toxorhynchites amboinensis*

U: uracilo

UMELISA: ensayo ultra-micro analítico inmunoenzimático

UTR: regiones no traducidas, (UTR, del inglés unstranlated región)

VDEN: Virus dengue

VDEN-1: virus dengue 1

VDEN-2: virus dengue 2

VDEN-3: virus dengue 3

VDEN-4: virus dengue 4

Índice General

Capítulo I. Introducción	1
I.1.Introducción.....	1
I.2. Objetivo General.....	4
I.3. Objetivos Específicos	4
Capítulo II. Marco teórico.....	5
II.1 Definición.....	5
II.2 Historia del dengue	5
II.3. Situación actual del dengue y su epidemiología.....	7
II.4. Situación del dengue en Cuba.....	7
II.5. Características del virus.	9
II.6. Organización del genoma	9
II.7. Proteína virales.....	10
II.7.1 Proteína estructurales.....	10
II.7.2. Proteínas no estructurales	11
II.8. Serotipos y subtipos genéticos.....	13
II.8.1. Características del serotipo 1 del virus dengue.	13
II.8.2. Características del serotipo 2 del virus dengue.	14
II.8.3. Características del serotipo 3 del virus dengue.	15
II.8.4. Características del serotipo 4 del virus dengue.	15
II.9. Diagnóstico de laboratorio	16
II.9.1. Métodos directos.....	17
II.9.2. Métodos indirectos.....	19
II.10. Inmunopatogenia de la enfermedad.....	20
II.11. Respuesta inmune.....	21
II.11.1. Respuesta inmune innata.....	21
II.11.2. Respuesta adaptativa	21
II.11.2.1. Respuesta humoral	22
II.11.2.2. Respuesta inmune celular	23
II.12. Características clínicas de la enfermedad.....	24
II.12.1. Manifestaciones clínicas en niños.	26
Capítulo III. Materiales y Métodos	28
III.1Tipo de estudio	28

III.2. Definición de universo y muestra	28
III.3. Operacionalización de las variables	28
III.4. Clasificación clínica de los pacientes según criterios de la OMS, 2009.....	30
III.5.1. Muestras clínicas.	30
III.5.2. Identificación del serotipo causante de la infección	31
III.5.3. Extracción del ARN.....	31
III.5.4. Detección del serotipo infectante mediante RT-PCR.....	32
III.5.5. Detección de anticuerpos IgM a virus dengue.....	33
III.5.6. Determinación del tipo de infección primaria o secundaria.....	34
III.6. Consideraciones éticas.....	34
III.7. Análisis y procesamiento de los resultados	35
Capítulo IV. Resultados y Discusión	36
IV.1. Confirmación de la infección por virus dengue en los casos incorporados al estudio.	36
IV.2. Características demográficas y clínicas de la población estudiada.	37
IV.2.1. Características clínicas de los 59 pacientes del estudio.	39
IV.3. Frecuencia de serotipos de dengue en la población estudiada.	42
IV.4. Frecuencia del tipo de infección por dengue (primaria o secundaria) en los casos confirmados.....	44
IV.5. Relación de las variables virológicas, serológicas y sociodemográficas con la evolución clínica de la enfermedad.	46
IV.5.1. Relación serotipo y tipo de infección en los pacientes confirmados por RT-PCR.....	46
IV.5.2. Relación del tipo de infección y la edad en pacientes confirmados por dengue.	47
IV.5.3. Relación del tipo de infección y la clasificación clínica en 59 pacientes.	50
IV.5.4. Relación entre los signos de alarma el tipo de infección y la edad en niños con DCSA.	52
IV.5.6. Relación de los signos de gravedad con el tipo de infección y la edad en los niños con DG.....	55
IV.5.6.1. Relación de la edad y los signos de gravedad en los niños con DG que tuvieron infección primaria.....	58
Capítulo V. Conclusiones	64
Capítulo VI. Recomendaciones.	65
Referencias Bibliográficas	66
Anexos	74

Índice de Figuras

Figura 1. Positividad de los pacientes con sospecha clínica de dengue con signos de alarma y dengue grave.....	37
Figura 2. Rango de edad de los pacientes con infección confirmada por dengue.....	38
Figura 3. Distribución del sexo en los pacientes con infección confirmada por dengue.....	38
Figura 4. Clasificación clínica de la infección por virus dengue en 59 pacientes estudiados.	40
Figura 5. Frecuencia de signos y síntomas de la infección por virus dengue en 51 pacientes con DCSA.	41
Figura 6. Frecuencia de signos y síntomas de la infección por virus dengue en 8 pacientes con DG.	41
Figura 7. Serotipo de virus dengue causante de la infección en los pacientes estudiados.	43
Figura 8. Tipo de infección por dengue (primaria o secundaria) en los pacientes con infección confirmada por virus dengue.....	45
Figura 9. Relación entre serotipo y tipo de infección en los pacientes confirmados por RT-PCR.....	47
Figura 10. Relación del tipo de infección y la edad en pacientes con infección confirmada por virus dengue.	49
Figura 11. Relación del tipo de infección y clasificación clínica en 59 pacientes.....	51

Figura 12. Relación del tipo de infección y signos de alarma en niños con DCSA.	54
Figura 13. Relación de la edad y los signos de alarma en niños con DCSA..	54
Figura 14. Relación del tipo de infección y el signo de gravedad en niños con DG.....	56
Figura 15. Relación de la edad y el signo de gravedad en niños con DG.	57
Figura 16. Relación de la edad y el signo de gravedad en niños con DG.	59

Índice de Tablas

Tabla 1: Operacionalización de las variables para determinar la relación entre las variables virológicas y sociodemográficos con la evolución clínica de la enfermedad.....	28
Tabla 2: Secuencias de cebadores y sondas empleadas en el RT-PCR serotipo del virus dengue.....	32
Tabla 3: Distribución de los pacientes según los días de evolución.....	36

Capítulo I. Introducción

I.1.Introducción

El dengue es una enfermedad viral que representa una seria preocupación para las autoridades de salud pública debido a su rápida expansión mundial y al potencial letal de sus formas graves. Actualmente, la enfermedad es endémica en aproximadamente 100 países, con mayor prevalencia en el Sudeste Asiático, el Pacífico Occidental y las Américas. Se estima que cada año ocurren entre 100 y 400 millones de infecciones, de las cuales cerca del 50% corresponden a niños menores de cinco años (1, 2).

El virus del dengue (VDEN) se transmite al ser humano mediante la picadura de mosquitos del género *Aedes* (principalmente *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*). Este virus pertenece al género *Orthoflavivirus*, familia *Flaviviridae*, y consiste en una partícula viral pequeña compuesta por un ARN monocatenario de polaridad positiva. Su genoma codifica tres proteínas estructurales —la de la cápside (C), la de envoltura (E) y la PrM/M—, así como siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5). Existen cuatro serotipos estrechamente relacionados pero serológicamente distintos (VDEN-1 al VDEN-4), responsables del complejo dengue (3).

La enfermedad presenta un período de incubación de 3 a 14 días y puede ser causada por cualquiera de los cuatro serotipos. La infección puede ser asintomática o sintomática. Las manifestaciones clínicas abarcan un amplio espectro, desde fiebre leve hasta cuadros hemorrágicos graves y muerte (4). La infección por un serotipo confiere inmunidad permanente frente a ese mismo, pero la protección cruzada hacia los demás serotipos es parcial y transitoria, lo que permite la posibilidad de infecciones secundarias (5). El desarrollo de dengue con signos de alarma y dengue grave está favorecido por la combinación de múltiples factores epidemiológicos, virales y del hospedero. La infección secundaria heterotípica es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de

manifestaciones graves de la enfermedad. También la combinación específica de determinados serotipos en infecciones secuenciales, así como el intervalo entre ambas infecciones han sido identificado como factores asociados a las formas graves de la enfermedad (6, 7). La edad, la etnia y posiblemente las enfermedades crónicas (asma, anemia de células falciformes y la diabetes mellitus) son factores contribuyentes (8).

En la región de las Américas, el dengue reemergió tras más de cinco décadas de casi ausencia. Actualmente, la enfermedad se considera hiperendémica, con la circulación simultánea de varios serotipos y brotes epidémicos recurrentes. En Cuba, el serotipo 1 se introdujo en 1977 que provocó la primera epidemia documentada en el país después de 1945. En 1981, se registró en Cuba, la primera epidemia de dengue hemorrágico en las Américas, causada por el serotipo 2. En ese brote se reportaron 344 203 casos, 10 312 de ellos graves, y 158 defunciones, de ellos 101 niños. Posteriormente, se notificaron nuevas epidemias en 1997 (serotipo 2), 2001-2002 (serotipo 3, genotipo III) y 2006 (serotipos 3 y 4). En los últimos años, el dengue ha mostrado un patrón de transmisión sostenido con la presencia de los tres serotipos en el territorio nacional durante 2022, 2023, 2024 y 2025, favorecido por la amplia dispersión y la elevada densidad del vector (9, 10).

En 2022, la región de las Américas experimentó un incremento notable en la transmisión de dengue. La Organización Mundial de la Salud (OMS) notificó 2 809 818 casos y 1 290 defunciones, lo que representó el doble de casos y el triple de fallecimientos en comparación con 2021. Los países más afectados fueron Nicaragua, Brasil y Belice (11).

En Cuba, también se observó un incremento de la enfermedad, debido a los elevados niveles de infestación de *Aedes aegypti*. Se observó, además, un incremento del número de niños con dengue con signos de alarma y dengue grave por encima de lo observado en años precedentes. Según lo reportado por el Laboratorio Nacional de Referencia de Arbovirus (LNR) del IPK, en este año se confirmaron 45 823 casos de dengue. El serotipo 3 fue el más frecuentemente

detectado por la vigilancia molecular, lo que probablemente estuvo asociado a la introducción del genotipo III Americano II en el país (12). Fueron afectadas todas las provincias siendo La Habana, Granma, Camagüey y Guantánamo las que presentaron mayor número de casos. En La Habana fue donde se reportó la mayor cantidad de niños con signos de alarma y dengue grave. Estos niños fueron hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro, el cual es el hospital de referencia en la provincia La Habana para el manejo de casos sospechosos de dengue en edades pediátricas(13).

Considerando el cambio en la situación epidemiológica en el país, la introducción del nuevo linaje de dengue 3 y el elevado número de niños de dengue con signos de alarma (DCSA) y dengue grave (DG), se propone hacer un estudio para profundizar en los diferentes factores, ya sean virológicos, del hospedero y sociodemográficos que pudieran estar implicados en el desarrollo de estos cuadros clínicos en edades pediátricas.

I.2. Objetivo General

Caracterizar la infección por el virus dengue según la evolución clínica de la enfermedad en niños hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro, 2022.

I.3. Objetivos Específicos

1. Confirmar la infección por el virus dengue en niños con sospecha clínica de dengue con signos de alarma y dengue grave.
2. Determinar el serotipo causante de la infección por dengue, así como el tipo de infección (primaria o secundaria).
3. Relacionar las variables virológicas, serológicas y sociodemográficas con la evolución clínica de la enfermedad.

Capítulo II. Marco teórico

II.1 Definición.

El dengue es una enfermedad viral aguda, considerada como la de mayor importancia a nivel mundial, transmitida por mosquitos del género *Aedes* (*Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*). La enfermedad produce una amplia gama de síntomas que van desde una infección asintomática o subclínica hasta cuadros severos y el choque (14).

El VDEN pertenece al género *Orthaflavivirus* de la familia *Flaviridae*. Los flavivirus son un grupo diverso de virus, en el que se incluyen además otros importantes patógenos como el virus de Fiebre Amarilla, el virus de la Encefalitis Japonesa, el virus del Nilo Occidental, el de la Encefalitis de San Luis, el virus Zika entre otros (15). El serocomplejo del dengue está formado por cuatro serotipos denominados Dengue-1 (VDEN-1), Dengue-2 (VDEN-2), Dengue-3 (VDEN-3), Dengue (VDEN-4), antigénicamente distintos, pero genéticamente emparentados (16).

II.2 Historia del dengue

El término dengue se deriva de la frase de la lengua swahili “Ki denga pepo”, que describe esa enfermedad como provocada por un fantasma, la palabra swahili denga, del castellano dengue, la cual trata de describir la molestia del paciente por las artralgias (17).

Los primeros reportes de la enfermedad aparecen en una enciclopedia médica china de la dinastía Jin (265-420) en la que se asocia el vuelo de los insectos con agua venenosa. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) la enfermedad pudo haberse manifestado por primera vez en 1635 en Martinica y Guadalupe. La enfermedad fue descrita clínicamente como tal en 1779. Las primeras epidemias se produjeron casi simultáneamente en Asia, África y América del Norte en 1781. En el período comprendido entre 1779-1916 se desarrollaron siete epidemias de dengue con una duración entre 3-6 años cada una (14).

La ocurrencia de epidemias estuvo dada por la adaptación del mosquito *Aedes aegypti* de origen africano a ambientes peridomésticos en las villas de África. La trata de esclavos permitió la introducción del mosquito al Nuevo Mundo. Durante los siglos XVII al XIX esta especie se adaptó y ya en 1800 estaba establecida en las principales ciudades tropicales alrededor del mundo (18).

La diseminación del mosquito durante la trata de esclavos, el comercio por barco, así como el traslado de virus y cepas por soldados durante la II Guerra Mundial, posiblemente favorecieron la expansión del vector y del virus, y por consiguiente de la forma severa de la enfermedad. Todo esto propició que durante el siglo XIX y la primera mitad del siglo XX se notificaran epidemias de dengue en diferentes áreas tropicales y subtropicales como en Estados Unidos en 1920 y 1922, Australia en 1925-1926 y 1954-1955, Sudáfrica en 1926-1927, Grecia en 1927-1928, Japón en 1942-1945 y el Caribe en 1963-1965. Muchas de estas epidemias afectaron a miles y millones de personas (18).

El reconocimiento de la fiebre hemorrágica del dengue ha sido de vital importancia y su carácter pandémico se establece en 1950. El primer brote de una enfermedad hemorrágica fue reportado en 1954 en Manila en Asia y afectó principalmente a niños, se denominó fiebre hemorrágica filipina (19-21).

En las Américas la enfermedad resurgió en 1960 en una situación de epidemia, convirtiéndose en un problema de salud en el continente americano. En la mayoría de los países de América Central y del Sur la enfermedad se logró controlar debido a la eliminación del vector durante la campaña desarrollada en ese periodo para eliminar el vector. En 1980 la incidencia de la enfermedad tuvo un aumento rápido, como consecuencia del fracaso del control del mosquito en Asia; provocando la amplia distribución del virus y el vector a las Islas del Pacífico y América tropical. Lo que trajo como consecuencia que en 1981 la enfermedad resurgiera en la región de las Américas, cuando Cuba informa la primera epidemia de Dengue Hemorrágico en la región. A partir de ese momento y hasta la actualidad se ha reportado un aumento de la enfermedad en diferentes países de la región (22).

II.3. Situación actual del dengue y su epidemiología

La emergencia o reemergencia del dengue está dada por la presencia de varios factores y la combinación de los mismos, que permiten el incremento del número de casos, la aparición de manifestaciones clínicas severas y la propagación de los cuatro serotipos (23).

En la actualidad la mitad de la población mundial está en riesgo de contraer la enfermedad. La infección por el virus dengue continúa siendo un desafío a nivel mundial, anualmente se estima que hay alrededor de 390 millones de infecciones, de las cuales alrededor de 100 millones presentan características clínicas y casi 500 mil personas con infección grave requieren hospitalización y el 90% de ellas son niños menores de cinco años. El virus predomina en zonas tropicales y subtropicales de África, América, Australia, el Mediterráneo oriental, el Pacífico occidental y Asia y, se ha detectado en más de 130 países y América representa más del 80% de los casos reportados hasta 2025 (24, 25).

En las Américas, el número de casos de dengue ha aumentado en las últimas cuatro décadas de 1.5 millones de casos en la década de los 80 a 16.2 millones de casos en el período 2010-2019. Según la OMS en los últimos cinco años ha existido un incremento del 20% en el número de casos (26).

II.4. Situación del dengue en Cuba.

La primera epidemia de dengue ocurrida en Cuba en la segunda mitad del siglo XX se reportó entre los años 1977-1979, ocasionada por el VDEN-1, donde se diagnosticaron 477 444, todo el país fue afectado siendo las provincias de La Habana, Camagüey, Matanzas, Villa Clara, Ciudad de La Habana y Santiago de Cuba las provincias con mayor tasa de incidencia. En 1981 aparece en Cuba y por primera vez en las Américas la Fiebre Hemorrágica de Dengue (FHD). En esta epidemia producida por el serotipo VDEN-2 se reportaron 344 203 casos, de los cuales 10312 desarrollaron las formas graves de la enfermedad y fallecieron 158 personas, de ellas 101 niños y 57 adultos. La epidemia estuvo marcada por la alta mortalidad en la edad pediátrica. Como resultado de la campaña anti vectorial en

el período de 1982-1996 el país se mantuvo libre de transmisión de VDEN por eliminación del vector (9).

Desde principios y hasta mediados de 1997 vuelve a detectarse en nuestro país el virus, específicamente en el municipio Santiago de Cuba. Se notificó un total de 17 114 casos sospechosos, de ellos 3012 casos se confirmaron mediante estudios serológicos, de los cuales 205 desarrollaron fiebre hemorrágica del dengue (FHD), de ellos 12 adultos fallecieron. El serotipo que ocasionó la epidemia fue VDEN-2, genotipo americano-asiático (27).

En el año 2000 ocurrió un nuevo brote como consecuencia de la introducción de dos nuevos serotipos, el VDEN-3 y VDEN-4. Este nuevo brote ocurrió en la provincia La Habana y se reportaron 138 casos. A mediados del 2001 se produce una nueva epidemia reportándose 14 443 casos, 81 de ellos desarrollaron FHD y tres personas fallecieron. El agente etiológico identificado fue VDEN-3 genotipo III (28).

En 2006 se produjo una epidemia por los serotipos 3 y 4 que afectó a varias provincias del país y provocó casos graves y algunos fallecidos. Entre los años 2011-2013 se produjo una epidemia protagonizada por los mismos serotipos. Esta epidemia provocó en su mayoría casos ligeros, aunque hubo algunos casos graves (9).

En los últimos años la enfermedad ha presentado brotes con regularidad, tanto casos leves como graves. Entre los años 2013 y 2018 en el país circularon los serotipos 2, 3 y 4. En 2016 existió una baja circulación de los serotipos 2 y 3, debido a la circulación del virus Zika. En 2019 y 2021 circularon en el país los serotipos 1 y 2, reportándose en 2019 un aumento de los casos (12). En los años 2022 y 2023 se detectaron los cuatro serotipos de dengue, en todo el territorio nacional debido a la alta dispersión del vector. Mientras que en 2024 se detectaron los serotipos 2, 3 y 4 predominando el VDEN-3 hasta, mediados del año que comenzó a ser reemplazado por el VDEN-4 y durante el año 2025 se detectaron

los mismos serotipos con un predominio del VDEN-4 seguido por el VDEN-3 y en menor proporción por el VDEN-2 durante todo el año (13).

II.5. Características del virus.

El virus dengue es un virus esférico de simetría icosaédrica con un diámetro aproximado de 50nm. El virus está compuesto por un genoma ARN monocatenario el cual está rodeado por la nucleocápside. La nucleocápside (compuesta de una membrana lipídica derivada de las células huésped) está constituida por una proteína de la cápside (C) y una envoltura. La envoltura es derivada del retículo endoplasmático y contiene a las proteínas de la envoltura (E) y la proteína de membrana (M) que dan lugar a las proyecciones que sobresalen de la superficie del virión (29).

Las partículas virales que se encuentran dentro de las vesículas intracelulares son inmaduras, solo contienen a la proteína precursora prM sin procesar y son menos infecciosas que las partículas liberadas al medio extracelular (29).

II.6. Organización del genoma

El genoma viral está compuesto por una única molécula de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario de polaridad positiva de aproximadamente 11 kilobases de longitud. El genoma tiene un único marco de lectura abierto (ORF) rodeado por regiones no traducidas (30) 5' y 3' terminales (30). El ORF codifica para aproximadamente 3390 residuos de la proteína grande. Las UTR de ambos extremos son regiones conservadas que regulan los procesos de amplificación, traducción y empaquetamiento del genoma (31, 32).

La región 5'UTR es una región de secuencias cortas y altamente estructurada, posee dos dominios estructurales que realizan funciones distintas en el proceso de síntesis del ARN. Los dominios están separados por una secuencia corta de oligos uracilo (U) que funciona como espaciador para mejorar la síntesis de ARN viral. El primer dominio se pliega en un tallo-bucle A grande, el cual actúa como promotor de la ARN polimerasa dependiente de ARN viral. El segundo dominio es una

secuencia de 16 nucleótidos que forma un tallo-bucle B corto el cual contiene el codón de iniciación AUG. La región 3'UTR carece de una cola poliA y en su lugar presenta un tallo-bucle 3' conservado. Los genes que codifican para las proteínas estructurales se encuentran en la región 5' terminal, mientras que en el segmento restante se codifican las proteínas no estructurales (33, 34).

II.7. Proteína virales

II.7.1 Proteína estructurales

La proteína C es un homodímero de 11 kDa de peso, su presencia es importante en la encapsidación del genoma viral. El dominio hidrofóbico en el extremo C-terminal permite su anclaje a la membrana del retículo endoplasmático. Además, interactúa con las proteínas precursoras de membrana (prM) para favorecer y completar el ensamblaje de las partículas virales. El extremo N-terminal donde se localiza el dominio de hélice 1, posee aminoácidos básicos que se asocian y unen fuertemente al ARN genómico recién sintetizado. De esta manera se forma la nucleocápside que protege al ARN viral de la degradación y promueve la organización del ARN en el interior de la partícula viral en formación (29, 35).

Durante el proceso de maduración y después de la ruptura de la proteína C, tiene lugar la escisión proteolítica del precursor prM glicosilado de 22 kDa, liberándose la proteína no glicosilada M de 8 kDa de peso. Estas dos proteínas de conjunto participan en la maduración de la partícula viral. La proteína M posee un ectodominio que puede estar involucrado en la muerte celular y en el daño tisular ocurrido durante la infección (35).

La proteína de envoltura E tiene un peso molecular de 50 kDa. Esta proteína se distribuye sobre la superficie del virus en forma de complejos homodímero cabeza-cola. La proteína es importante en las interacciones entre el virus y los receptores de las células hospederas. La glicoproteína E es un importante sitio con antígeno del virus por lo que estimula la respuesta inmune del individuo e induce la respuesta de anticuerpos neutralizantes. Las mutaciones en esta proteína pueden

afectar directamente la eficiencia de la replicación, la virulencia y el tropismo del VDEN (36).

II.7.2. Proteínas no estructurales

Las proteínas no estructurales participan en la replicación y el empaquetamiento viral, procesos que están estrechamente relacionados con el retículo endoplasmático del hospedero y la vía secretora (37).

La proteína NS1 es una glicoproteína de 48 kDa de peso molecular forma dímeros o hexámeros asociados a balsas lipídicas de la membrana plasmática. También se encuentra soluble en el citoplasma y en el espacio extracelular, por esta razón la NS1 puede estimular al sistema inmunitario (38).

Esta proteína está implicada en la patogénesis de la enfermedad por dengue, debido a la similitud existente con las lipoproteínas de alta densidad, algunos autores han propuesto que la NS1 interrumpe la cascada de coagulación posiblemente al interferir con la interacción o biogénesis de partículas de lipoproteínas endógena. La acumulación de NS1 se ha observado en sueros de pacientes con fiebre hemorrágica de dengue/choque por dengue durante la fase crítica, la concentración sérica se correlaciona con la gravedad de la enfermedad (39).

La región que codifica para la proteína NS2 se divide en NS2a y NS2b. La NS2a es una proteína de 22 kDa de peso, in vitro esta proteína promueve el ensamblaje y la replicación viral. Esta proteína participa en el reclutamiento del ARN necesario para la replicación. Por su parte la proteína NS2b posee una región hidrofóbica que se encuentra asociada a la membrana del retículo endoplasmático, la cual actúa como cofactor en el complejo NS2b-NS3 (40).

La proteína NS3 posee un peso molecular de 70 kDa y es una proteína bipartita. La proteína posee en su extremo N-terminal que es un dominio proteasa similar a la tripsina (NS3pro) y en el extremo C-terminal posee un dominio con diferentes actividades enzimáticas. El extremo C-terminal tiene una actividad trifosfatasa de

nucleótidos estimulada por ARN y de helicasa del ARN, estas funciones son indispensables en la replicación viral. El dominio C-terminal hidroliza los complejos NS2A/NS2B, NS2B/NS3, NS3/NS4A y NS4B/NS5, la unión a estos complejos le confiere al dominio NS3pro estabilidad durante su actividad proteolítica. Estudios recientes demuestran que esta proteína es la encargada de generar un ambiente lipídico apropiado alrededor del retículo endoplasmático, reclutando las enzimas celulares que participan en la síntesis de lípidos, esto garantiza el inicio de ensamblaje (41).

La proteína NS4 se modificada postraduccionalmente y se divide en NS4A y NS4B. Ambas proteínas son hidrofóbicas y tienen un peso molecular de 16 y 27 kDa respectivamente. Estas proteínas están conectadas a un péptido de transmembrana llamado 2K, el cual se escinde durante la maduración de NS4A. La proteína NS4A induce la reorganización de las membranas del retículo endoplasmático (RE) observada durante la infección. Además de participar en la replicación viral, promueve la autofagia, lo que previene la muerte celular inducida por la infección. La proteína NS4B interactúa con el dominio helicasa de NS3, permitiendo la disociación de la cadena de ARN. Estas proteínas, tanto la NS4A como la NS4B trabajan cooperativamente durante la replicación viral (42).

La proteína NS5 (102 kDa) es la proteína más grande y más conservada de los cuatro serotipos de dengue. La proteína tiene dos dominios, uno metiltransferasa localizado en su extremo N-terminal y una ARN polimerasa dependiente de ARN en su extremo C-terminal. El dominio metiltransferasa es responsable de la protección del ARN viral. El dominio en su extremo C-terminal permite la replicación viral. NS5 también puede regular negativamente la respuesta inmune del huésped al interferón a través de su interacción con la proteína transductora de señales y activadora de la transcripción modulando el empalme del ARN dentro de la célula huésped (43).

II.8. Serotipos y subtipos genéticos

El complejo del virus dengue está integrado por cuatro serotipos los que están relacionados genéticamente, pero son antigénicamente diferentes. Cada serotipo a su vez se clasifica según la similitud de la secuencia nucleotídica de la proteína E del virus. En la actualidad se han detectado seis genotipos de VDEN-1, seis para el serotipo VDEN-2, cinco para el serotipo VDEN-3, cuatro para el serotipo VDEN-4. Esta diversidad genética se atribuye a que la ARN polimerasa no presenta actividad correctora de errores, se piensa que se produce una mutación por cada replicación de su genoma (44).

II.8.1. Características del serotipo 1 del virus dengue.

El serotipo 1 del virus dengue filogenéticamente se subdivide en seis genotipos denominados genotipo (I;II;III;IV;V y selvático) y se agrupan en clados geográficamente estructurados(45). El genotipo I ha sido detectado principalmente en Asia con alta frecuencia en Indochina y el sudeste asiático continental y ha actuado como fuente de múltiples linajes exportados a otras regiones. Este genotipo ha circulado limitadamente en África oriental y meridional (46).

El genotipo IV se ha descrito fundamentalmente en el sudeste asiático marítimo (Filipinas, Indonesia y otras islas del Sudeste Asiático) y en múltiples islas del Pacífico. El genotipo V es actualmente uno de los genotipos más ampliamente distribuidos, con presencia consolidada en Asia, las Américas y, de manera creciente, en África. En el sudeste asiático, el genotipo V ha estado implicado en numerosos brotes en países como Malasia, Singapur y Tailandia, donde co-circula con otros genotipos de VDEN-1 (47).

Aunque los genotipos II y III están menos representados que I y V, se han aislado en distintas regiones de Asia y África, con patrones de circulación más focales. Recientes análisis genómicos en África oriental describen un clado de VDEN-1 genotipo III en Tanzania y Kenia alrededor de 2017–2020, vinculado a exportaciones desde el sudeste asiático y las Américas (48).

En las Américas VDENV-1 genotipo V ha mostrado un patrón de dispersión espacio-temporal marcado por múltiples introducciones y posterior establecimiento local, impulsado por la movilidad humana y la alta densidad del mosquito *Aedes aegypti*. La persistencia de este serotipo en poblaciones urbanas densamente pobladas favorece ciclos recurrentes de transmisión, con alternancia de serotipos y genotipos que modulan el riesgo de dengue grave en función del estado inmunológico de la población (49, 50).

Estudios recientes plantean que el genotipo V puede presentar una mayor incidencia de dengue grave en comparación con el genotipo I en determinadas poblaciones. Esta mayor gravedad se ha vinculado a niveles elevados de ciertas citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión, junto con concentraciones reducidas de algunas quimiocinas, lo que podría favorecer una respuesta inflamatoria desregulada y mayor permeabilidad vascular (51).

II.8.2. Características del serotipo 2 del virus dengue.

El serotipo 2 del virus del dengue presenta una estructura filogenética compleja, conformada por varios genotipos y numerosos linajes que difieren en su distribución geográfica, historia evolutiva y, potencialmente, en su virulencia. Estas características hacen del VDENV- 2 uno de los serotipos con mayor heterogeneidad genética dentro del complejo dengue (52).

Este serotipo se subdivide filogenéticamente seis genotipos: asiático-americano, Asiático-I, Asiático-II, Cosmopolita, Americano y Selvático (45). El genotipo asiático-americano presenta siete linajes siendo el más diversos de los seis genotipos (52).

El genotipo Cosmopolita es predominante en Asia, África y ha circulado en las Américas. Este genotipo ha sido asociado a menor riesgo de padecer dengue hemorrágico en Asia. Mientras que en América linajes de este genotipo han reemplazado al genotipo Asiático-americano y se han vinculado al desarrollo de dengue con signos de alarma (53-55).

El genotipo asiático-I se concentra en el sudeste asiático y los genotipos asiático II y asiático-americano se distribuyen entre Asia y las Américas, los cuales se han vinculado a las emergencias de dengue hemorrágico y choque por dengue sobre todo en las Américas. El genotipo americano se distribuye casi exclusivamente al continente americano, donde se ha asociado con predominante a casos de dengue leve (56-59).

II.8.3. Características del serotipo 3 del virus dengue.

El serotipo 3 del VDENV se caracteriza por una marcada diversidad filogenómica, con varios genotipos y linajes globalmente distribuidos, entre los cuales el genotipo III ha mostrado una expansión particularmente amplia y una potencial asociación con brotes de mayor gravedad. Esta diversidad se traduce en implicaciones clínicas relevantes, moduladas por la secuencia de infecciones y el estado inmunitario poblacional. Este serotipo está compuesto por cinco genotipos que van desde el genotipo I hasta el genotipo V. Los genotipos I y II se han detectado fundamentalmente en Asia, mientras que el genotipo III se distribuye en Asia, el Caribe, América Latina, África oriental y Europa con múltiples linajes. El genotipo III ha generado numerosos linajes a partir de un origen asiático-indio, con expansión secuencial hacia África oriental y posteriormente hacia las Américas, donde se ha convertido en el genotipo dominante (60-62).

La circulación exclusiva del genotipo I o de determinados linajes del genotipo III en 2019 se correlacionó con una alta proporción de casos graves en Bangladesh, lo que sugiere que determinados clados de VDENV-3 pueden tener un perfil virulento aumentado. En las Américas la introducción del genotipo III de este serotipo ha coincidido temporalmente con la aparición y el aumento de casos de FHD en Centroamérica. La introducción en 2022 de un nuevo linaje del genotipo III (linaje americano II) coincidió con el aumento de la transmisión de este serotipo y con el aumento de casos de DCSA y DG (12, 62-64).

II.8.4. Características del serotipo 4 del virus dengue.

El serotipo 4 del virus dengue presenta una diversidad filogenómica moderada, consta de cuatro genotipos que van desde el I-IV. Los genotipos presentan una distribución regional diferenciada entre Asia, el Caribe y América del Sur. El genotipo I circula en países como Filipinas, Tailandia, Vietnam, Myanmar, Malasia, Sri Lanka, India, Japón, China y Brasil. La circulación de los genotipos II y III se ha asociado al sudeste asiático, China, las islas del Pacífico occidental, Australia, países caribeños como Puerto Rico y a algunos brotes en Brasil. El genotipo III fue detectado en cinco muestras de Tailandia y el genotipo IV es el genotipo selvático, el cual fue aislado de monos en Malasia (65, 66).

El VDENV-4 en comparación con los otros serotipos se ha asociado al desarrollo de casos leves y en muchos casos depende del estado inmunológico de la población. Hasta la fecha no se ha demostrado de forma concluyente que un genotipo específico de este serotipo determine por sí solo una mayor letalidad, las variaciones genéticas pueden alterar sutilmente la replicación viral, el tropismo tisular, y la eficacia de neutralización, influyendo en la ocurrencia de formas graves a nivel poblacional (66).

II.9. Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio eficiente y preciso es de vital importancia para la vigilancia epidemiológica y la atención clínica. Este contribuye a la detección temprana de casos graves, la confirmación de casos, el diagnóstico diferencial con otras enfermedades infecciosas, la vigilancia epidemiológica, el aumento de la transmisión, el control del vector, la investigación académica y el desarrollo de vacunas (67).

En el diagnóstico del dengue se emplean métodos de diagnóstico directos (métodos virológicos) para la detección del agente viral o alguno de sus componentes o métodos indirectos (diagnóstico serológico) que detectan la presencia de anticuerpos como parte de la respuesta inmune humoral del individuo infectado (68).

II.9.1. Métodos directos

Los métodos directos detectan la presencia del virus, la presencia del genoma viral o la presencia de antígeno viral (NS1) en muestras clínicas. Estos métodos son más eficientes en muestras clínicas colectadas en los primeros días de inicio de los síntomas lo que se corresponde con la etapa de viremia.

El aislamiento viral es la prueba de oro para la identificación de virus, el cual es un componente importante en la investigación de las epidemias. Esta es una técnica que de ser positiva constituye una prueba específica y confiable de la presencia y viabilidad del virus (69).

El aislamiento viral puede realizarse inoculando larvas o mosquitos adultos de la especie *Aedes sp*, cultivos celulares en células de mosquito AP61, CLA-T, Tra-284, C6/36 y C6/36HT, en células de mamífero, células LLCMK2, Vero y BHK1 y en ratones lactantes. La inoculación en mosquitos es el método más sensible, mientras que la inoculación de ratones es el método de menor sensibilidad (70).

Se emplean diversas muestras de suero, plasma y líquido cefalorraquídeo de pacientes infectados que presentan fiebre de hasta cinco días de inicio de los síntomas, lo que ofrece resultados satisfactorios. Sin embargo, el aislamiento viral en pacientes con una infección secundaria por virus dengue es más difícil y presenta menor sensibilidad por la rápida producción anamnéstica de anticuerpos de reacción cruzada y la formación de inmunocomplejos de anticuerpos neutralizante-virus circulante (71).

El aislamiento viral no se emplea en los laboratorios de diagnóstico debido a que es muy costoso y puede tardar días o semanas en obtenerse un resultado. Esta es una técnica que se emplea con mayor frecuencia en los laboratorios de referencia con fines de investigación. Los métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR del inglés reverse transcription and polymerase chain reaction) y la hibridación de ácidos nucleicos han sido empleados con gran éxito para diagnosticar la infección por dengue. Los

métodos basados en PCR permiten la obtención del diagnóstico el mismo día o un día después con una mayor sensibilidad (72, 73).

El primer PCR empleado en el diagnóstico del dengue fue realizado por Laciotti y cols., el cual es una PCR de dos pasos altamente sensible. Este método se modificó convirtiéndose en un ensayo RT-PCR multiplex en tiempo real, el cual se ha establecido a nivel mundial como referente en el diagnóstico del dengue (74).

La Administración de alimentos y medicamentos (por sus siglas en inglés, FDA) de los Estados Unidos aprobó el qRT-PCR (CDC VDEN-1, VDEN-2, VDEN-3, VDEN-4 REAL TIME RT-PCR Assay) es un PCR desarrollado por Centro para el Control de Enfermedades de Estados Unidos (por sus siglas en inglés, CDC) el cual permite en un solo ensayo detectar los cuatro serotipos del virus en una sola muestra colectada y es el recomendado por la OPS como método de referencia en el diagnóstico. Este ensayo detecta una alta proporción de casos y puede realizarse tanto simplex como multiplex sin modificar su alta sensibilidad y especificidad para los cuatro serotipos del virus (75).

La ventaja principal de esta técnica radica en que el ARN viral puede detectarse desde el inicio de la enfermedad. Su alta sensibilidad y especificidad, la rapidez con que se obtiene el diagnóstico, lo barato y la facilidad de ejecución lo convierten en un método más viable para el diagnóstico actualmente. A pesar de sus ventajas es un método que requiere de equipo especializado y personal calificado (72).

La proteína viral NS1 es el blanco fundamental en el diagnóstico temprano de la infección por dengue. La proteína se secreta en las etapas temprana de la infección proveniente de las células infectadas, por lo que se encuentra en altos niveles en la sangre de pacientes infectados y puede detectarse desde el inicio de la enfermedad hasta nueve días o más después del inicio de los síntomas, por lo que lo hace un biomarcador prometedor para el desarrollo de inmunoensayos comerciales como los ensayos rápidos (76).

El ELISA de captura de NS1 fue descrito por primera vez en el 2000 y se emplea en la detección de la proteína NS1 fundamentalmente en suero, plasma o sangre seca, a partir de aquí se han desarrollado formatos comerciales diversos. El desarrollo comercial de la detección de antígeno NS1 como herramienta de diagnóstico ha revolucionado el diagnóstico del dengue ya que ha proporcionado ensayos simples con alta sensibilidad y especificidad. Una limitación de la detección de NS1 para los pacientes que experimentan una infección secundaria es el rápido aumento anamnésico de anticuerpos anti NS1 de reacción cruzada durante la fase aguda de la enfermedad con una disminución de la sensibilidad (77, 78).

II.9.2. Métodos indirectos

Los métodos serológicos se basan en la detección de la respuesta inmune del hospedero al virus, fundamentalmente se detectan los anticuerpos en suero y líquido cefalorraquídeo. Los métodos más empleados en el diagnóstico rutinario son: el ELISA de captura de IgM (MAC-ELISA), el ELISA de inhibición (MEI-ELISA), la inhibición de la hemaglutinación y la neutralización por reducción de placas (PRNT) (79).

La detección de anticuerpos IgM e IgG es la modalidad diagnóstica más empleada en el diagnóstico de la enfermedad por dengue. Se recomienda la detección de anticuerpos IgM a dengue en muestras obtenidas entre el quinto y el sexto día de iniciado los síntomas o después, donde se logran detectar altos niveles de IgM en infecciones primarias. En infecciones secundarias la IgM se encuentra en bajos niveles. Para determinar la presencia de IgM se realiza el ELISA de captura de IgM (MAC-ELISA) que es una técnica rápida y sencilla, requiere de solo una muestra de suero o plasma. Esta técnica presenta un menor rendimiento en comparación con los métodos moleculares, aunque se necesita equipo de laboratorio y personal calificado. Este ensayo presenta una sensibilidad entre un 90-97% comparado con la inhibición de la hemaglutinación. Este método es de gran utilidad para hacer un tamizado de la infección o indicar la presencia de

infección reciente. La técnica se emplea ampliamente en diagnóstico y la vigilancia serológica del dengue (80).

Los anticuerpos IgG se comienzan a detectar de siete a diez días después del inicio de los síntomas, en pacientes con infección primaria, mientras que en las infecciones secundarias los anticuerpos pueden detectarse desde la fase aguda. La técnica más empleada actualmente en la detección de anticuerpos IgG es el ELISA de inhibición, la cual permite clasificar la infección en primaria o secundaria (81).

La detección de la infección por dengue empleando esta técnica es muy complejo en un escenario epidemiológico donde circulan varios Flavivirus, debido a la reactividad cruzada en la respuesta de anticuerpos, debido a que estos comparten epítomos de la proteína E. Este fenómeno desencadena la aparición de falsos positivos (70).

La neutralización por reducción del número de placas (PRNT) es la referencia para la detección serológica de infecciones arbovirales. La PRNT se basa en la capacidad que tienen los anticuerpos de neutralizar al virus. Es la prueba serológica más específica entre los flavivirus y serotipo-específica entre los virus dengue. Este método relaciona los niveles de protección del suero contra el virus (82).

II.10. Inmunopatogenia de la enfermedad.

El VDEN se transmite de persona a persona mediante la picadura de un mosquito infectado. Tras la inoculación, la replicación viral comienza en las células dendríticas de Langerhans de la dermis y luego el virus migra a los ganglios linfáticos regionales. La viremia se establece a través de monocitos y macrófagos circulantes, que diseminan el patógeno a órganos sólidos y a la médula ósea (83).

En la mayoría de los casos la infección es autolimitada y los pacientes se recuperan sin complicaciones, denominándose dengue leve. Un hallazgo característico es el aumento de la permeabilidad vascular, que provoca fuga de

plasma hacia el peritoneo, la cavidad pleural y los tejidos intersticiales. Este fenómeno se origina en una respuesta inmune desregulada, conocida como “tormenta de citocinas”, que eleva la permeabilidad microvascular sin inflamación y altera los mecanismos tromboreguladores (84).

II.11. Respuesta inmune.

II.11.1. Respuesta inmune innata.

Después de la picadura, el virus se replica en queratinocitos y células de Langerhans, activando los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y desencadenando una respuesta antiviral temprana. Se produce interferón tipo I (IFN-I) y se liberan citocinas, quimiocinas y proteínas de fase aguda, creando un microambiente inflamatorio que limita la replicación viral. (85-89).

Los IFN tipo I y III inducen estados antivirales en las células y ayudan a la producción de moléculas proinflamatorias y antivirales a través de vías de señalización relacionadas con los PRR (90). Las células dendríticas envían señales para reclutar células NK a través del IFN tipo I y el TNF- α , lo que resulta en actividad de perforina/granzima, muerte del virus y producción de IFN- γ . El aumento de las células NK activas ha sido asociado al desarrollo de manifestaciones leves de la enfermedad, mientras que su disminución ha sido asociada con las formas severas (91).

El sistema del complemento también es un componente de la respuesta inmune innata. El complejo de vía de la lectina fijadora de manosa induce protección neutralizante contra el virus. El reconocimiento del virus por este complejo activa la vía clásica del complemento, induciendo la lisis y el reclutamiento de fagocitos y la inflamación celular (92).

II.11.2. Respuesta adaptativa

La inmunidad humoral y celular son componentes importantes de la respuesta inmune adaptativa a las infecciones por VDENV. Las respuestas inmunes

humorales y celulares inducidas por VDEN se asocian con el desarrollo de manifestaciones graves de la enfermedad (93).

II.11.2.1. Respuesta humoral

La respuesta inmune humoral juega un papel fundamental en el control de la infección y la diseminación del VDEN. Los anticuerpos neutralizantes (por sus siglas en inglés, nAbs,) constituyen el componente central de esta respuesta, al prevenir la entrada viral y promover la eliminación del patógeno. La infección primaria por VDEN induce altos títulos de nAbs específicos del serotipo homólogo, que confieren inmunidad duradera contra ese serotipo, pero inmunidad transitoria y parcial contra serotipos heterólogos en infecciones secundarias (94).

Los nAbs actúan reconociendo epítomos conformacionales, glicanos y dominios funcionales en las proteínas de la envoltura (E) y la cápside (C), bloqueando la unión viral a receptores celulares. Sin embargo, la amplificación dependiente de anticuerpos (ADE, por sus siglas en inglés), se asocia al desarrollo de manifestaciones graves. El VDEN emplea los complejos inmunes (virus-anticuerpo) para infectar eficientemente células melanocíticas vía receptores Fcγ (FcγR), facilitando la diseminación linfática y la viremia amplificada. Este mecanismo es fundamental en la patogénesis de las infecciones secundarias heterotípicas, ocasionando dengue con signos de alarma y dengue grave (94, 95).

En infecciones heterotípicas, los nAbs heterólogos de la primoinfección se unen sub típicamente al serotipo infectante sin neutralizarlo, formando complejos opsonizados reconocidos por FcγR en monocitos/macrófagos. Esto desencadena una replicación viral exacerbada y una cascada inflamatoria desregulada, culminando en fuga plasmática, hipovolemia y choque. Adicionalmente, la ADE suprime la inmunidad antiviral mediante dos vías principales: (1) activación de reguladores negativos de señalización (SOCS, CIS) que inhiben la producción de interferón tipo I (IFN-I); y (2) reducción de IL-12 e IFN-γ, con la consecuente atenuación de la vía JAK-STAT. Ambas alteraciones elevan la carga viral, perpetuando la tormenta de citocinas y las manifestaciones graves (95, 96).

II.11.2.2. Respuesta inmune celular

La activación de la respuesta inmune celular resulta esencial para la eliminación de la infección por VDEN. El reconocimiento de péptidos virales presentados por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase I en linfocitos T citotóxicos (CD8+) constituye un mecanismo clave para la destrucción de células infectadas que producen proteínas virales. Estos linfocitos T CD8+ desempeñan un rol primordial en el control viral agudo y en la vigilancia inmunológica a largo plazo, permitiendo una respuesta rápida y protectora ante reinfecciones heterotípicas (93).

Para el control efectivo de la infección, se requiere la coordinación con linfocitos T cooperadores tipo 1 (Th1), que estimulan la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-12, IL-18, TNF- α e IFN- γ . Los niveles elevados de estas citoquinas se asocian a cuadros graves de dengue, reflejando una desregulación inflamatoria. La activación de receptores T específicos para VDEN en linfocitos T citotóxicos induce la secreción de IFN- γ y la regulación positiva de CD107 (marcador de desgranulación), eventos que median la lisis citotóxica de células infectadas. De hecho, los niveles de linfocitos T CD4+ y CD8+ y los niveles expresados de CD107 se correlaciona directamente con la protección clínica contra formas severas de la enfermedad (96).

Durante una reinfección con un serotipo diferente, se produce una expansión preferencial de linfocitos T de memoria específicos generados en la primera infección, muchos de ellos con reactividad cruzada y afinidad subóptima, fenómeno conocido como “pecado antigénico original”, que se traduce en una respuesta desproporcionada más que eficazmente protectora. Esta activación de linfocitos T CD4+ y CD8+, junto con la participación de células NK y monocitos/macrófagos infectados, condiciona una elevada producción de citocinas proinflamatorias y quimiocinas, contribuyendo al aumento de la permeabilidad vascular, la disfunción endotelial y las alteraciones hemostáticas características del dengue grave. De este modo, la interacción entre memoria inmunológica, potenciación mediada por anticuerpos y respuesta celular exacerbada se reconoce

como un eje clave para explicar la mayor frecuencia de complicaciones clínicas en las infecciones secundarias por virus del dengue (97).

II.12. Características clínicas de la enfermedad.

Los grupos de expertos de la OPS y la OMS acordaron que el dengue es una sola enfermedad con presentaciones clínicas diferentes y a menudo con evolución clínica y resultados impredecibles, por lo que se realizó una clasificación de los casos de dengue atendiendo a la gravedad de la infección (98).

La infección por virus dengue puede resultar en una infección asintomática o sintomática. Aproximadamente un 20% de las infecciones son sintomáticas y los pacientes experimentan un amplio espectro de síntomas de leves a graves. La enfermedad tiene un inicio abrupto con tres fases identificadas: febril, crítica y de recuperación (99).

La fase febril tiene un inicio rápido, inicialmente con fiebre alta repentina. Tiene una duración entre dos y siete días y se caracteriza por un eritema cutáneo enrojecido facial, dolor corporal generalizado, mialgia, artralgia, dolor ocular retroorbitario, fotofobia, exantema rubeliforme y dolor de cabeza. La anorexia, las náuseas y los vómitos también son frecuentes (70).

En la fase crítica de la enfermedad, los pacientes que la desarrollan pueden experimentar signos de alarma que indican el aumento de la permeabilidad capilar lo que conduce a la fuga de plasma. Generalmente los pacientes sufren un empeoramiento a partir del cuarto día de la enfermedad coincidiendo con la caída de la fiebre y es en este periodo donde se observan los primeros síntomas de fuga vascular. En esta etapa se produce la caída del recuento de plaquetas y un aumento de los niveles de hematocrito (70).

La fase de recuperación puede ser notablemente rápida. La reabsorción de líquidos extravasculares se acompaña de una mejora en el bienestar general del paciente y se recupera el apetito acompañado de la desaparición de otros síntomas. Algunos pacientes pueden desarrollar la erupción cutánea de

recuperación, en el tronco y luego se extienden a la cabeza y las extremidades (100).

Las guías de la OMS de 1997 clasifican la enfermedad clínicamente como Fiebre dengue (FD) aquellos pacientes que presentan fiebre, dolor retroocular, mialgias, artralgias y exantema evolucionando satisfactoriamente; fiebre hemorrágica por dengue (FHD) caracterizado por un aumento transitorio de la permeabilidad vascular que produce fuga de plasma, con fiebre alta, sangrado, trombocitopenia y hemoconcentración, que puede evolucionar al choque por dengue conocido como síndrome de choque por dengue (SCD) si no se aplica un manejo clínico adecuado y rápido del paciente. Esta clasificación está basada en la fisiopatología de la enfermedad, se considera muy rígida, demasiado dependiente de los resultados de laboratorio y no inclusiva de enfermos de dengue con otras formas de gravedad (101, 102). Teniendo en cuenta esto en 2009 la OMS recomienda una nueva clasificación clínica dirigida a garantizar el manejo clínico adecuado de los casos, detectar tempranamente el agravamiento de los pacientes y evitar la gravedad y la muerte (98).

El dengue sin signos de alarma (DSSA) se presenta con fiebre de inicio súbito e incluye síntomas como vómitos, náuseas, exantema, cefalea, dolor retroorbitario, artralgia, mialgia, prueba del torniquete positiva y leucopenia (103).

Los signos de alarma en el dengue suelen aparecer en la fase crítica cuando desaparece la fiebre, estos pueden conllevar al dengue grave: vómitos reiterados, edema o hinchazón, dolor abdominal intenso y mantenido, irritabilidad, somnolencia, desmayos y sangrados. La aparición de un solo síntoma ya se considera dengue con signos de alarma (104).

En el dengue grave (DG) las manifestaciones clínicas suelen aparecer como consecuencia de la extravasación intensa de fluidos, entre estas manifestaciones se encuentra el choque por dengue, acumulación de fluidos con distrés respiratorio, sangrado severo, alteraciones de la conciencia, transaminasas altas y afectación a diferentes órganos como el corazón y el cerebro (103).

El desarrollo de dengue con signos de alarma (DCSA) y DG está influenciado por factores virales como el serotipo infectante y la virulencia, factores del hospedero como: la edad, el sexo, la raza, el estado nutricional, la infección secundaria y la respuesta inmune del hospedero, además factores de factores epidemiológicos (102).

II.12.1. Manifestaciones clínicas en niños.

Los niños y los adolescentes con dengue muestran un cuadro clínico similar al de los adultos. Sin embargo algunos síntomas como epistaxis, oliguria y hepatomegalia se presentan con mayor frecuencia en la niñez (105).

Los niños pueden desarrollar una enfermedad febril indiferenciada que dura desde unas pocas horas hasta días y excede de 38°C. Muchos niños presentan solamente fiebre sin otro síntoma o signo y mantienen un buen estado general.

El exantema puede aparecer durante los primeros días de la enfermedad o a partir del tercer día de evolución. Este puede ser fino o grueso y no tiene una distribución específica, aunque suele iniciarse en el tronco y se irradia en forma centrifuga hacia las extremidades, asociado con rubor facial más o menos intenso. Aunque es un cuadro clínico leve pueden desarrollarse complicaciones y aparecer los denominados signos de alarma al final de la fase febril o cuando desaparece la fiebre (106). Los signos de alarma más frecuentes son: el dolor abdominal intenso y mantenido, los derrames en cavidades cubiertas y serosas y la elevación progresiva del hematocrito (107).

El dengue grave por choque puede ocurrir a cualquier edad, pero los signos de extravasación de plasma y choque son más frecuentes e intensos en los niños. Esta complicación no tiene un día exacto de presentación, pero lo más frecuente es que ocurra entre el tercer y quinto día de la enfermedad. En el primer momento el infante no presenta irregularidades en la presión arterial, pero presenta taquicardia, frialdad de los tegumentos, oliguria, pulso capilar enlentecido y cianosis distal. Más avanzado el cuadro suele aparecer la hipotensión llegando

hacerse imperceptible la tensión arterial y se afecta la conciencia, lo que es un signo de choque tardío. En las edades pediátricas en un choque por dengue no necesariamente ocurre la caída de la tensión arterial (108-110).

Los niños a diferencia de los adultos pueden ser más susceptibles al sangrado gastrointestinal relacionado con el choque por permeabilidad vascular. En la adolescencia la frecuencia del síndrome de permeabilidad vascular del dengue y la tasa de letalidad disminuye (111).

Las afectaciones en órganos o sistemas de órganos debido a una infección por dengue en las edades pediátricas son menos frecuentes, debido a que esto es influenciado por la situación inmunitaria, la inmadurez neurovegetativa y la labilidad metabólica propia de los más pequeños. La encefalitis y la miocarditis por dengue en los más pequeños son poco frecuentes por lo que se tiene presente como posibilidad diagnóstica ante cualquier niño que presente síntomas de encefalitis o miocarditis (112-114). El daño hepático es muy frecuente y multicausal. Se manifiesta con la presencia de ictericia (poco frecuente en el dengue) y elevación hasta 10 veces o más de una o las dos enzimas hepáticas TGP y TGO y puede evidenciarse un trastorno de la coagulación. Debe diferenciarse de la afección provocada por cualquiera de los tipos de hepatitis o cualquiera otra hepatomegalia infecciosa tóxica (115).

Capítulo III. Materiales y Métodos

III.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio retrospectivo, desarrollado en el LNR Arbovirus del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” de conjunto con el Hospital Pediátrico del Cerro en La Habana. El objetivo del estudio fue determinar si las variables virológicas, serológicas y sociodemográficas se relacionaron con la evolución clínica de la infección por dengue observada en pacientes pediátricos durante la epidemia de 2022 en La Habana.

III.2. Definición de universo y muestra

El universo está constituido por todos los pacientes hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro en el período de septiembre a octubre de 2022 provenientes de áreas con transmisión confirmada de dengue en La Habana, Artemisa y Mayabeque y con sospecha clínica de la entidad, teniendo en cuenta que se cumplieran los siguientes criterios de inclusión: que fueran pacientes pediátricos con un diagnóstico clínico sospechoso de dengue que presentaran signos de alarma o dengue grave y cuyos padres o tutores accedieron de forma voluntaria a participar en el estudio. Se excluyeron del estudio los pacientes que los padres o tutores no accedieron a participar en el estudio y aquellos que no tuvieron confirmación de la infección. La muestra está constituida por los casos que fueron confirmados etiológicamente por RT-PCR o ELISA-MAC.

III.3. Operacionalización de las variables

Tabla 1: Operacionalización de las variables para determinar la relación entre las variables virológicas y sociodemográficos con la evolución clínica de la enfermedad.

Variable	Tipo de variable	Escala	Descripción
Edad	Cuantitativa	1, 2, 3,4...	Cantidad de años que un ser humano ha vivido

	Discreta		desde su nacimiento
Sexo	Cualitativa dicotómica	nominal Femenino Masculino	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer.
Dolor abdominal	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Dolor que se siente en el área entre el pecho y la ingle, a menudo denominado vientre.
Vómitos	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Expulsión forzada del contenido gástrico por la boca.
Hepatomegalia	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Aumento anormal del tamaño del hígado
Irritabilidad	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Sensación de frustración o enojo
Letargia	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Estado de somnolencia profunda, desgano anormal y falta de energía.
Acumulación de clínica líquidos	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Fuga de líquido de los vasos sanguíneos hacia los espacios y cavidades del cuerpo
Lipotimia	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Sensación de mareo
Sangramiento de mucosa	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Aparición de hemorragias por nariz, oídos y garganta.
Aumento del hematocrito	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Niveles de hematocrito altos.
Sangramiento grave	Cualitativa dicotómica	nominal Sí No	Aparición de hemorragias profusas en órganos

Choque o dificultad respiratoria	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Aparición del choque, hipovolemia y distrés respiratorio.
Compromiso grave de órganos	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Aparición de esplenomegalia, ictero, aumento de las transaminasas, daños neurológicos y cardíacos. Fallo de órganos
Serotipo	Cualitativa nominal dicotómica	Dengue -1 Dengue-2 Dengue-3 Dengue-4	Reacción en Cadena de la Polimerasa para la detección del ácido nucleico del serotipo específico del VDENV
IgM	Cualitativa nominal dicotómica	Positivo Negativo	Anticuerpo IgM anti-dengue presente durante una infección del VDENV
Tipo de infección	Cualitativa nominal dicotómica	Primaria Secundaria	Infección según el título de anticuerpos IgG presentes

III.4. Clasificación clínica de los pacientes según criterios de la OMS, 2009.

Los pacientes se clasificaron clínicamente de acuerdo a los criterios de clasificación clínica de la OMS del 2009 en: dengue con signos de alarma aquellos pacientes que desarrollaron dolor abdominal intenso o abdomen doloroso a la palpación, vómitos persistentes, acumulación clínica de líquidos (ascitis, derrame pleural, edema), sangrado de mucosas, letargo o inquietud, hepatomegalia mayor de 2 cm, aumento del hematocrito o lipotimia. Se clasificaron como dengue grave aquellos pacientes que desarrollaron choque o dificultad respiratoria, sangrado grave o compromiso de órganos (116).

III.5. Técnicas y procedimientos

III.5.1. Muestras clínicas.

Se colectaron muestras de suero de la fase aguda (pacientes que se encuentran entre el cero y el cuarto día de inicio de los síntomas) y la fase convaleciente temprana (pacientes que se encuentran entre el quinto y los 15 días de inicio de los síntomas) en el período de septiembre a octubre de 2022 de los pacientes pediátricos hospitalizados que presentaban sospecha clínica de dengue con signos de alarma y dengue grave. Las muestras de suero de fase aguda fueron almacenadas y conservadas a -80°C y los sueros de la fase convaleciente se almacenaron a -20°C en el LNR Arbovirus en el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” hasta su procesamiento. Los niños hospitalizados con sospecha clínica de dengue con signos de alarma y dengue grave a los cuales se les había colectado el suero en la fase aguda, se les confirmó la infección por dengue y se determinó el serotipo infectante empleando un RT-PCR en tiempo real (del inglés reverse transcription and polymerase chain reaction) propuesto por el CDC. Tanto a los niños que permanecían hospitalizados desde la fase aguda como a los que habían sido hospitalizados en la fase convaleciente se les colectó una muestra de suero en la fase convaleciente y se les determinó la presencia de anticuerpos IgM mediante el sistema ultra-micro analítico de captura de IgM (confirmación de infección reciente por dengue) y de IgG mediante el ELISA de inhibición, respectivamente (117). El título de anticuerpos IgG anti-dengue permitió conocer el tipo de infección (primaria o secundaria).

III.5.2. Identificación del serotipo causante de la infección

La identificación del serotipo de las muestras se realizó en los casos que se encontraban en la fase aguda de la infección. A las muestras se les realizó el RT-PCR en tiempo real siguiendo el protocolo del CDC que permite la identificación del serotipo infectante (118).

III.5.3. Extracción del ARN.

Para la extracción del ARN se emplearon 140 μL de cada suero. Este procedimiento se realizó empleando el estuche comercial QIAamp® RNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania), siguiendo las indicaciones descritas por el

fabricante. Finalmente se obtuvo un ARN purificado diluido en 60 µL de tampón de elusión, el cual se almacenó a -80 hasta la realización de las pruebas moleculares para la detección del serotipo infectante.

III.5.4. Detección del serotipo infectante mediante RT-PCR.

Para la detección de los serotipos causantes se empleó la metodología TaqMan o sondas de hidrólisis empleando la plataforma Light Cycler 96 (Roche Diagnostics, EE.UU), siguiendo el protocolo descrito por el CDC (118).

Se realizó a cada muestra de suero la reacción de RT-PCR para cada serotipo de dengue, además de la detección del gen de RnasaP, con el empleo de los cebadores y sondas propuestos por la Red de Laboratorios para el Diagnóstico de Arbovirus (RELDA) de la OPS/OMS (Tabla 2). Estos cebadores amplifican un fragmento del gen de la proteína E del genoma del virus dengue.(118)

Tabla 2: Secuencias de cebadores y sondas empleadas en el RT-PCR serotipo del virus dengue.

Cebadores y Sondas	Posición en el genoma (5'-3')	Marcaje de la sonda
CDC D1_F	CAAAAGGAAGTCGYGCAATA	
CDC D-1_R	CTGAGTGAATTCTCTCTGCTRAAC	
CDC D-1_P	CATGTGGYTGGGAGCRCGC	5'-FAM-3'-BHQ1
CDC D-2_F	CAGGCTATGGCACYGTCACGAT	
CDC D-2_R	CCATYTGACAGCARCACCATCTC	
CDC D-2_P	CTCYCCRAGAACGGGCCTCGACTTCA A	5'-HEX-3'-BHQ1
CDC D-3_F	GGACTRGACACACGCACCCA	
CDC D-3_R	CATGTCTCTACCTTCTCGACTTGYCT	
CDC D-3_P	ACCTGGATGTCGGCTGAAGGAGCTT G	5'-TEXAS RED-3'- BHQ2
CDC D-4_F	TTGTCCTAATGATGCTRGTCG	
CDC D-4_R	TCCACCYGAGACTCCTTCCA	

CDC D-4_P	TYCCTACYCCTACGCATCGCATTCCG	5'-Cy5-3'-BHQ2
RnaseP_Forward	AGATTGGACCTGCGAGCG	
RnaseP_Reverse	GAGCGGCTGTCTCCACAAGT	
RnaseP_Probe	TTCTGACCTGAAGGCTCTGCGCG	5'-FAM-3'-BHQ1

Para la realización de este procedimiento se añadieron a 5 µL de ARN extraído de cada muestra clínica 20 µL de una mezcla formada por: 5,55µL de agua 12,5 µL de Master Mix 2X, 0,5 µL de cebadores sentido y anti sentido para los cuatro serotipos del virus, 0,45 µL de la sonda correspondiente a los cuatro serotipos y 0,5 µL de enzima. Los parámetros de amplificación fueron los siguientes: inicialmente un paso de activación de la enzima durante 30 minutos a 50 °C, seguido por un paso de desnaturalización a 95 °C por 2 minutos y luego 45 ciclos a 95 °C por 15 segundos y 60 °C durante 1 minutos, ciclo donde ocurre la detección de la fluorescencia según el fluorocromo con el cual se marcó la sonda (FAM, VIC, TEXAS RED, CY5) (Tabla 2).

Una vez concluido el RT-PCR en tiempo real los datos se analizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. Se consideraron positivas aquellas muestras cuya línea umbral (Ct del inglés *Threshold Cycle*) estuvo por debajo o igual al ciclo 37 y negativas aquellas muestras cuyo Ct estuvo por encima del ciclo 37.

III.5.5. Detección de anticuerpos IgM a virus dengue.

Para la confirmación y determinación de la presencia de anticuerpos IgM anti-dengue se empleó un ensayo ultra-micro analítico inmunoenzimático heterogéneo cualitativo en su variante de captura, que emplea pequeños volúmenes de reactivos y muestras. El ensayo se realizó empleando el estuche comercial UMELISA Dengue IgM plus, según las indicaciones del fabricante (CIE, La Habana, Cuba).

La validación e interpretación de los resultados del ensayo se realizó en el lector PR521, mediante el paquete de programas Strips Reader Software versión 8.0 de la tecnología SUMA (CIE, La Habana, Cuba).

Se consideraron positivas todas las muestras que presentaron una fluorescencia mayor o igual al valor de corte, el cual está relacionado con la fluorescencia de la media de los controles negativos y positivos (119).

III.5.6. Determinación del tipo de infección primaria o secundaria.

El ELISA de inhibición normalizado por Fernández y cols. en 1990 se empleó para determinar el tipo de infección (primaria o secundaria). El procedimiento se realizó siguiendo el protocolo descrito por Vázquez y cols. Las lecturas se realizaron en un lector de ELISA Titertek Multiskan a 492 nm. Todos los sueros se trabajaron a título final. Se consideró el título de anticuerpos a virus dengue de un suero la mayor dilución en la que se observa un porcentaje de inhibición mayor o igual al 50%, lo cual está relacionado con la densidad óptica (DO) de la media de los negativos entre 2. Se consideró como criterio de validez de la prueba una relación positiva/negativo mayor o igual a 5 (117) .

En los sueros que fueron colectados con menos de cinco días de la aparición de la fiebre, se consideró como caso de infección primaria aquellos que presentaban títulos de anticuerpos IgG menor a 20 y caso de infección secundaria aquellos que presentaban títulos de anticuerpos IgG mayor o igual a 20. En los sueros que fueron colectados entre cinco y 15 días de la aparición de la fiebre, se consideró como caso de infección primaria aquellos que presentaban títulos de anticuerpos IgG mayor o igual a 20 y menor de 2560 y caso de infección secundaria aquellos que presentaban títulos de anticuerpos IgG mayor o igual a 2560 (120).

III.6. Consideraciones éticas

El estudio se realizó de acuerdo a los principios éticos y científicos expresados en la Declaración de Helsinki y en las normas nacionales aprobadas por el CECMED. Predominaron los principios de voluntariedad, beneficencia y confidencialidad en la recogida de los datos obtenidos en la base de datos. Todos los procedimientos del estudio fueron evaluados por el Comité de Ética del IPK. (Anexo 1).

Este estudio forma parte del Proyecto Sectorial 2305001 Caracterización clínico epidemiológica y estudio de marcadores virales e inmunológicos en niños con Dengue con signos de alarma y Dengue grave en el Hospital Pediátrico del Cerro, 2022, aprobado en el 2022 por un período de 3 años.

III.7. Análisis y procesamiento de los resultados

Los datos sociodemográficos, clínicos y epidemiológicos se colectaron de la base de datos del proyecto Cerro, cada paciente tiene un número único. Los datos de esta base se obtuvieron durante el período de hospitalización, la cual contiene aspectos esenciales del interrogatorio médico, examen físico y la historia clínica de cada paciente. La obtención de la información clínica se realizó por facultativos del Hospital Pediátrico del Cerro.

Se determinó la asociación entre la edad, el serotipo, el tipo de infección y el desarrollo de dengue con signos de alarma y dengue grave empleando el paquete estadístico GraphPad v10.4.2.633, para lo cual se realizaron tablas de contingencia y se empleó la prueba estadística exacta de Fisher y se calculó el odd ratio (OR) para determinar el nivel de asociación. Se consideraron significativos los valores de $OR > 1$ y $p < 0.05$, con un nivel de significación de 95%, lo que indicó que hay una asociación y significativa.

Capítulo IV. Resultados y Discusión

En el presente trabajo se analizó el comportamiento de la infección por dengue en la población pediátrica, tomando como universo los niños hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro durante la epidemia de dengue en 2022. La investigación abarcó el periodo comprendido entre septiembre y octubre de ese año e incluyó a 332 niños clínicamente sospechosos de dengue con signos de alarma o dengue grave de los cuales se confirmó la infección en 260, con estos pacientes realizamos el estudio. Este trabajo fue diseñado con el propósito de documentar un fenómeno (niños con dengue con signos de alarma y dengue grave) que se había observado poco en el país desde la epidemia de dengue en 1981.

IV.1. Confirmación de la infección por virus dengue en los casos incorporados al estudio.

En la tabla 3 se observa, que se registraron 332 pacientes en el estudio. De ellos, en 71 se obtuvo una muestra de suero en los primeros cuatro días de evolución (fase aguda), por lo que se realizó la prueba de RT-PCR para confirmar la infección por virus dengue. En los 332 pacientes se obtuvo una muestra de suero con más de cinco días de evolución, empleándose en estos casos el UMELISA IgM plus para confirmar serológicamente la infección. En 71 pacientes se obtuvieron dos muestras de suero (una de la fase aguda y otra de la fase convaleciente temprana) y en 261 solo se obtuvo una muestra de la fase convaleciente temprana.

Tabla 3: Distribución de los pacientes según los días de evolución.

Total de pacientes	Pacientes con 0-4 días de evolución	Pacientes con más de 5 días de evolución
332	71	332

La figura 1 muestra la positividad de los 332 casos registrados. Mediante RT-PCR se confirmó la infección en 20 casos, lo que representa una positividad del 28,1%. Por su parte el UMELISA IgM dengue plus confirmó 260 casos, con una positividad del 78,1%. En los 260 pacientes confirmados por UMELISA IgM dengue plus están incluidos los 20 pacientes positivos por PCR. En el estudio se incluyeron los 260 pacientes con infección confirmada a dengue por los métodos moleculares o serológicos anteriormente citados.

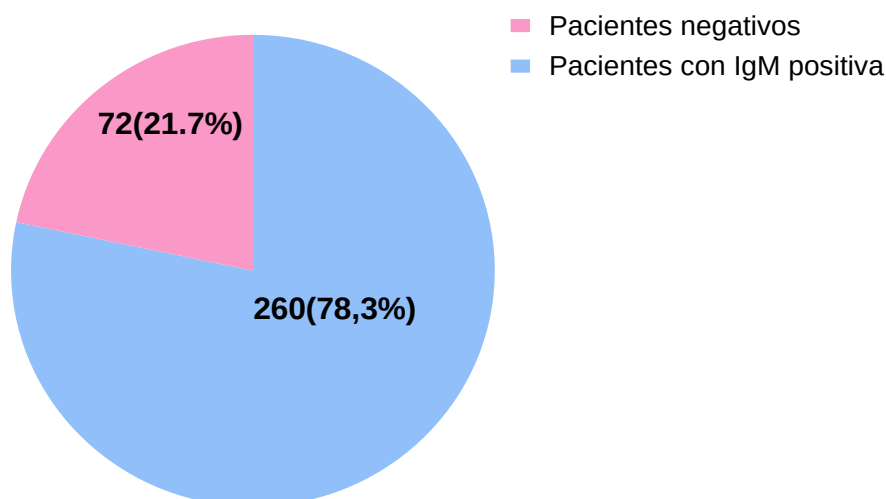


Figura 1. Positividad de los pacientes con sospecha clínica de dengue con signos de alarma y dengue grave.

IV.2. Características demográficas y clínicas de la población estudiada.

Las figuras 2 y 3 reflejan la distribución de la población según edad y sexo. El grupo etario más frecuente fue el de cinco a nueve años con un 35,4% (92/260) de los pacientes, seguido por el de 10 a 14 años con un 30,4% (79/260). La distribución por sexo fue equitativa, con un ligero predominio del sexo femenino.

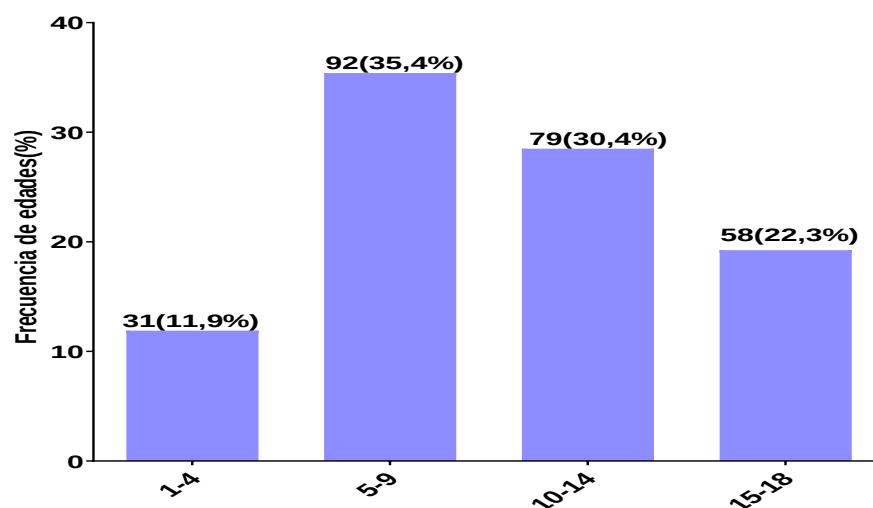


Figura 2. Rango de edad de los pacientes con infección confirmada por dengue.

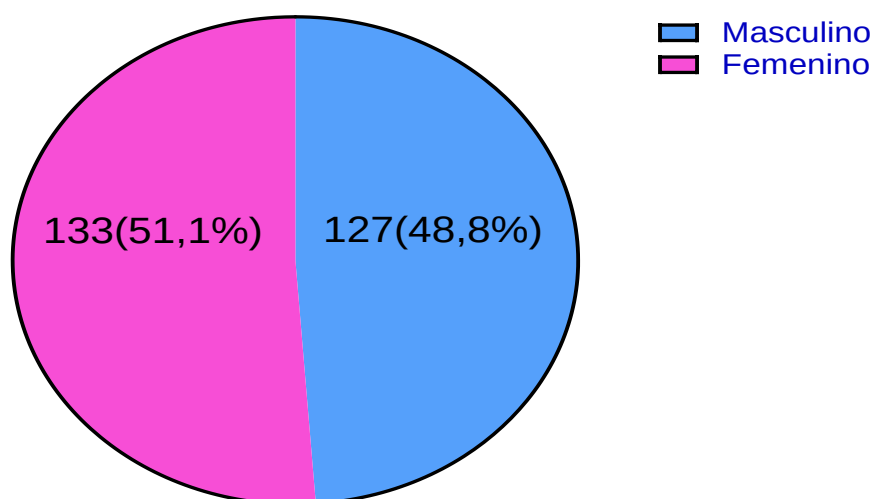


Figura 3. Distribución del sexo en los pacientes con infección confirmada por dengue.

El dengue se considera una enfermedad que afecta principalmente a los niños en edad escolar. Este hallazgo coincide con nuestro estudio y con el estudio prospectivo transversal de cinco años (2011-2016) realizado por Ramabhatta y cols., en la India y publicado en 2017, en el que el 42,6% de los 568 niños caracterizados pertenecían al grupo de cinco a 10 años (121).

Un estudio descriptivo prospectivo realizado en India en el 2021 por Selvan y cols. señaló que el grupo etario más afectado fue el de 10 a 18 años, seguido del de seis a 10 años. Si bien nuestros resultados difieren al de esos autores, ambos coinciden en que los niños mayores de cinco años son los más vulnerables. En este estudio el género masculino fue el más afectado (122). En Indonesia, Santoso y cols., (2025) caracterizaron un brote ocurrido en Maumere en 2020 y encontraron que el grupo más afectado fue el de 10 a 14 años, seguido del de cinco a nueve años, los cuales son similares a nuestros hallazgos (123).

En las Américas se han realizado estudios sobre el dengue en esta población. En un estudio realizado en Ecuador en 2017 con 79 niños positivos para dengue, el grupo etario de 10 a 14 años fue el más frecuente seguido del de cinco a nueve años. En este se observó una ligera mayoría de pacientes del sexo femenino sin diferencias significativas entre sexos. En Cuba Díaz y Figueroa en el 2017 caracterizaron clínicamente a pacientes pediátricos hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro con sospecha clínica de dengue y reportaron que el grupo de 10 a 18 años, fue el más afectado, seguido del de cinco a nueve años. Otro estudio realizado en Camagüey por Puga y cols., en el 2023, indicó que la edad predominante fue la de uno a cuatro años, seguida de la de cinco a nueve años, con una afectación mayor en el sexo masculino. Estas diferencias reflejan que el virus puede afectar a cualquier grupo etario (124-126).

IV.2.1. Características clínicas de los 59 pacientes del estudio.

Según la nueva clasificación clínica de la OMS 2009, que Cuba utiliza para el manejo clínico de los casos, solo uno de cada diez casos progresa a dengue grave. Esta clasificación tiene un carácter pronóstico y está diseñada para guiar decisiones de manejo clínico de los casos que permita salvar la vida del paciente a través de la detección temprana de los signos de alarma (101). Debido a que solo se contaron con los datos clínicos y clasificación clínica de 59 pacientes con infección confirmada por virus dengue, estos fueron utilizados para los análisis clínico, virológico y serológico. En la figura 4 se presenta la clasificación clínica de

los 59 pacientes evaluados según estos criterios. De ellos, el 86,4% (51/59) desarrollaron dengue con signos de alarma y el 13,5% (8/59) dengue grave. Las figuras 5 y 6 reflejan los signos de alarma de gravedad presentados por estos pacientes.

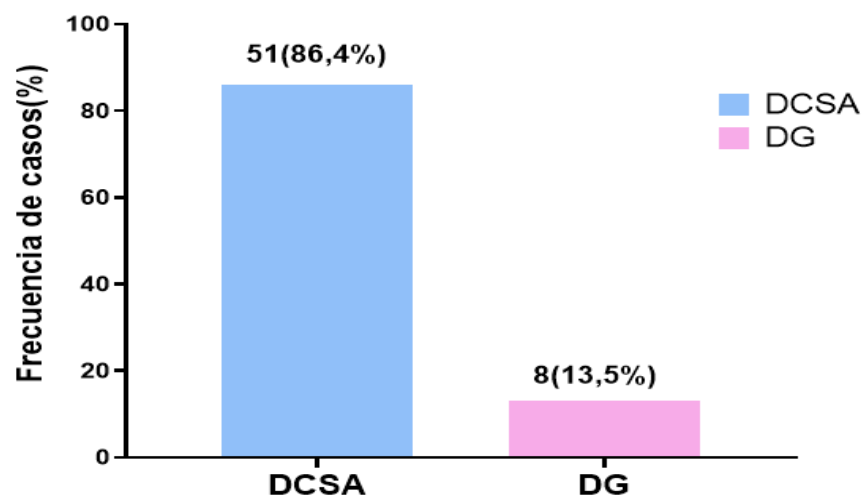


Figura 4. Clasificación clínica de la infección por virus dengue en 59 pacientes estudiados. **Fuente:** Base de datos clínicos del Proyecto Sectorial 2305001. Abreviaturas: DCSA: Dengue con signos de alarma; DG: Dengue grave.

Como se observa en la figura 5, los signos de alarma más frecuentes en los casos de DCSA fueron el dolor abdominal (60,7%, 31/51), los vómitos persistentes (54,9%, 28/51) y la acumulación clínica de líquidos (43,1%, 22/51).

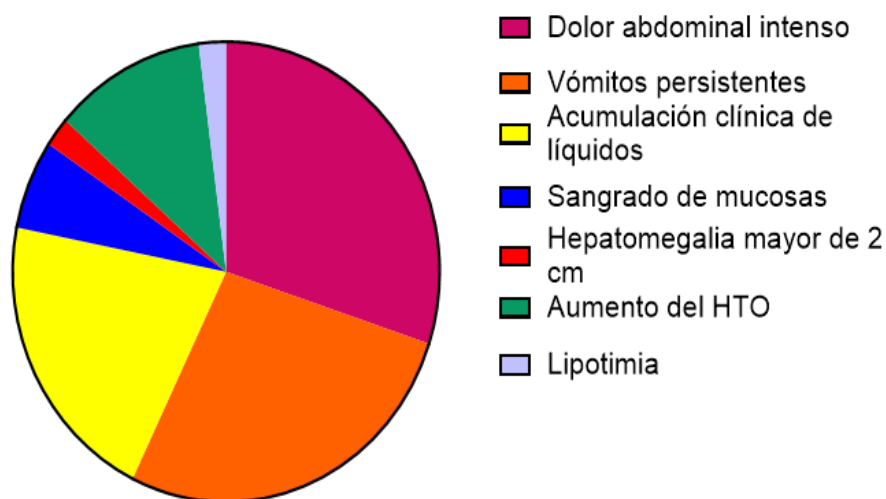


Figura 5. Frecuencia de signos y síntomas de la infección por virus dengue en 51 pacientes con DCSA. **Fuente:** Base de datos clínicos del Proyecto Sectorial 2305001.

La figura 6 muestra que el signo de gravedad más frecuente en los casos de dengue grave fue el choque en el 75% (6/8). Todos estos casos fueron clasificados previamente como casos de dengue con signos de alarma, siendo el dolor abdominal (87,5%, 7/8), la acumulación de líquidos (75%, 6/8), los vómitos (75%; 6/8), y la lipotimia (42,8%, 3/7) los signos de alarma más frecuentes. No se registraron fallecidos.

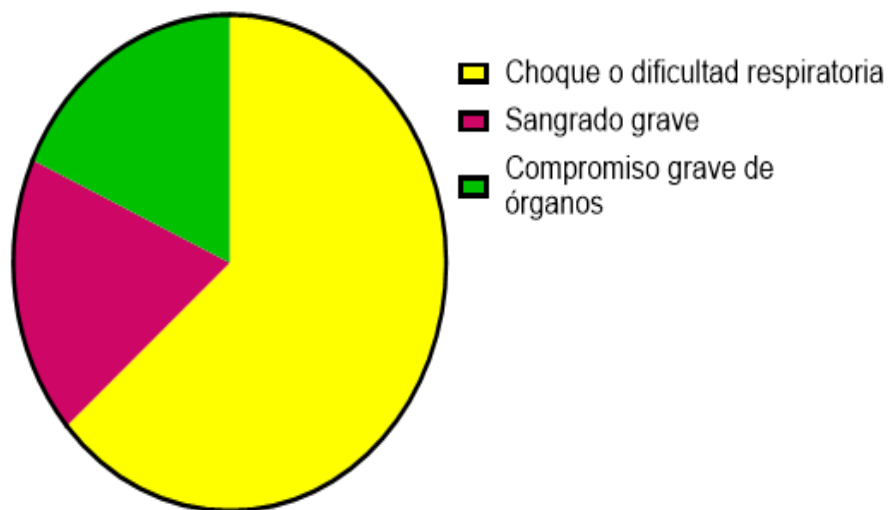


Figura 6. Frecuencia de signos y síntomas de la infección por virus dengue en 8 pacientes con DG. **Fuente:** Base de datos clínicos del Proyecto Sectorial 2305001.

En Cuba las características clínicas del dengue pediátrico han sido estudiadas desde la epidemia de dengue 2 en 1981, en la que los niños fueron los más afectados.

Un estudio retrospectivo realizado en 2022 en 67 niños fallecidos durante la epidemia cubana de 1981, identificó como signos de alarma más frecuentes los vómitos, el sangramiento, el dolor abdominal y la hepatomegalia. Entre los signos de gravedad se destacaron el choque y el compromiso grave de órganos. El

compromiso grave de órganos se manifestó en alteraciones de la conciencia, la esplenomegalia, las convulsiones y el coma (127).

Otros estudios nacionales como el de Consuegra y cols., publicado en el 2021 con 19 niños en choque por dengue y el de Mariño –Corso y cols (2019) con 62 niños con DCSA tres con DG, coinciden en señalar al dolor abdominal intenso, la acumulación clínica de líquido y la hepatomegalia como signos de alarma frecuentes. Así mismo Alvaré y cols., en 2021 reportaron que los vómitos y el dolor abdominal son los signos de alarma más comunes; mientras que la dificultad respiratoria y el compromiso de órganos fueron los signos de gravedad predominantes. Nuestros hallazgos son consistentes con los anteriormente referidos (128-130)

A nivel internacional, estudios como el de Arora y cols., en el 2021 en la India, el de Moustafa y cols., en el 2020 en Arabia Saudita y el de Florez y cols., en 2024 en Colombia, también destacan el dolor abdominal, los vómitos y la acumulación clínica de líquidos como signos de alarma frecuentes y el choque y el compromiso de órganos como las principales manifestaciones de gravedad (131-133).

Estudios realizados en una población pediátrica en Iquitos, 102 niños desarrollaron dengue con signos de alarma y 73 desarrollaron dengue grave. El dolor abdominal y los vómitos predominaron. Los signos de gravedad registrados fueron choque, sangrado grave y compromiso grave de órganos (134).

El desarrollo de las manifestaciones clínicas graves durante el dengue está influenciado por factores como el serotipo viral, el genotipo y la edad del paciente.

IV.3. Frecuencia de serotipos de dengue en la población estudiada.

De 71 niños con muestras colectadas en la etapa aguda de la enfermedad, se confirmó la infección mediante RT-PCR en 20 (28.1%). La figura 7 muestra la frecuencia de infección por serotipo en los niños estudiados con infección confirmada por RT-PCR. En un niño se confirmó la infección por dengue 1 (1/20 para un 5% de positividad a este serotipo), la infección por dengue 2 se confirmó

en dos niños para un 10%, la infección por dengue 3 fue confirmada en 17 pacientes para un 85%. No se detectaron infecciones por dengue 4. Estos resultados evidencian una alta positividad para el serotipo 3 que fue el responsable de la mayor cantidad de infecciones y confirman la circulación de al menos tres serotipos del virus dengue en el periodo estudiado en las provincias La Habana, Artemisa y Mayabeque, lo cual coincide con los reportes de la Vigilancia molecular que desarrolla el Laboratorio Nacional de Referencia de Arbovirus en 2022 (13).

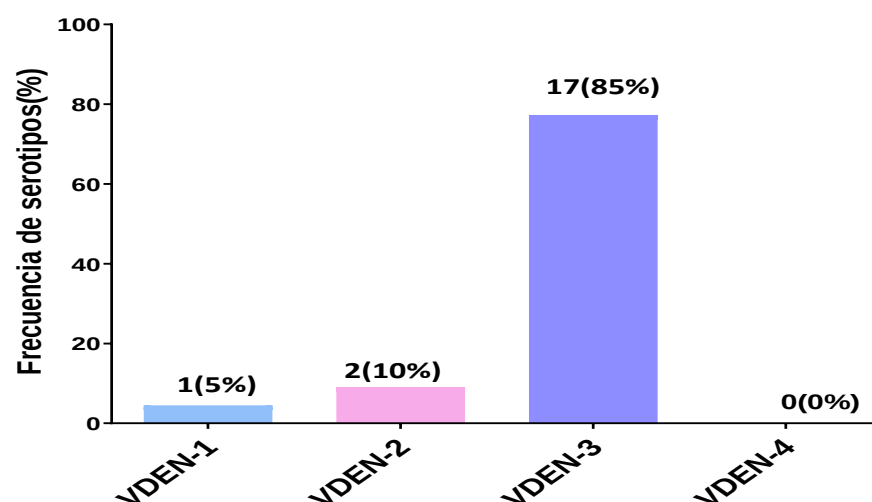


Figura 7. Serotipo de virus dengue causante de la infección en los pacientes estudiados. **Período:** septiembre a octubre 2022. Abreviaturas: VDEN-1: Dengue 1; VDEN-2: Dengue 2; VDEN-3: Dengue 3; VDEN-4: Dengue 4.

A nivel mundial, la dinámica molecular del dengue ha sido ampliamente estudiada. En 2018, Mehtta y cols., reportaron en la India el predominio del serotipo 3, reflejando su alta circulación en Asia (135).

En América Latina, desde 2022 se ha observado un incremento en la circulación del virus dengue 3, relacionado con la reintroducción en 2019 de un nuevo linaje (genotipo III, linaje americano II). En Brasil, Naveca y cols., en 2023 confirmaron el predominio de este serotipo y su introducción en la región de las Américas desde la India en 2019 (136). Así mismo, Cerpas y cols., en 2023 señalaron la

reintroducción de un nuevo linaje de dengue 3 en Nicaragua, reemplazando al linaje que anteriormente circulaba (137).

En África, Neto y cols., (2017-2019) reportaron en Angola que el 97% de las infecciones fueron causadas por el serotipo 2. Por otro lado, Abera y cols (2022-2023) describieron en Etiopía la cocirculación de los serotipos 1 y 3, con predominio de este último (94,6%). Estas diferencias subrayan la compleja dinámica molecular del virus a escala global (138, 139).

En Sri Lanka, Ariyaratne y cols. (2023) documentaron un brote entre 2022 y 2023 en el que el serotipo 3 predominó tras el levantamiento de las restricciones de distanciamiento social a mediados de 2022 por la pandemia de COVID-19, llegando a representar más del 70% de las muestras positivas en varias provincias en el 2023 (140).

Según reportes de la OPS, se ha registrado un incremento significativo en la región de las Américas del serotipo 3 del dengue, modificando el panorama epidemiológico reciente. Tras años sin circulación documentada, el VDEN-3 fue detectado en Costa Rica en 2022. Este evento precedió a un aumento de casos en 2023 y culminó con la consolidación de este serotipo como predominante en el país para 2024. Un patrón similar se observó en Brasil en 2023, donde el VDEN-3 fue notificado tras una larga ausencia, logrando predominar rápidamente sobre otros serotipos. Este fenómeno de reemplazo también fue evidente en Puerto Rico donde después de un período de casi una década (2013-2022) en el que solo circuló el VDEN-1, el serotipo 3 emergió como predominante durante el periodo 2023-2024, desplazando efectivamente al serotipo anterior (141).

IV.4. Frecuencia del tipo de infección por dengue (primaria o secundaria) en los casos confirmados.

La infección primaria o secundaria está determinada por la circulación de uno o varios serotipos de dengue, lo que expone a las personas a la infección por varios serotipos durante su vida (142) .

En la Figura 8 se muestra la frecuencia de casos con infección primaria y secundaria. La infección secundaria fue más frecuente, representando el 65,8% (171/260) en los casos con infección confirmada.

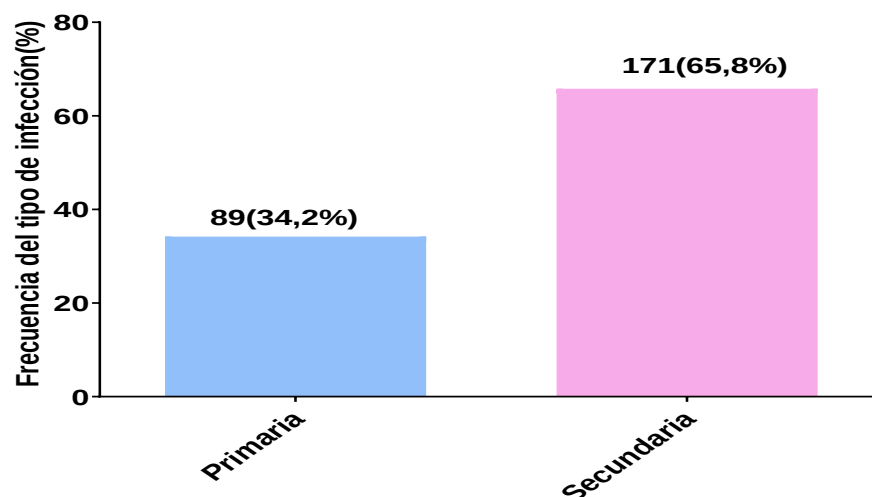


Figura 8. Tipo de infección por dengue (primaria o secundaria) en los pacientes con infección confirmada por virus dengue

Este hallazgo coincide con estudios realizados en Paraguay por Jiménez y cols., (2013-2018), para identificar los factores predictores de mortalidad en niños con dengue grave hospitalizados en una unidad de cuidados intensivos, donde identificaron la infección secundaria como la más frecuente en niños con dengue grave (143)

En Indonesia Tatura y cols., en el 2021 realizaron una caracterización clínica, virológica y serológica de la infección por dengue en niños y adolescentes que presentaban sospecha clínica de dengue. En el estudio determinaron el tipo de infección que habían desarrollado los niños y concluyeron que la infección secundaria era la predominante, fenómeno atribuible a la cocirculación de varios serotipos en el país. Wardhani y cols., (2017) también respaldan este resultado en población en general. No obstante, un estudio prospectivo de Bandaru y Vanumu (2016) en 105 niños reportó una mayor frecuencia de infección primaria (59%) frente a la secundaria (41%), posiblemente debido a que la infección primaria fue más común en menores de un año, que constituían la población predominante y

generalmente este grupo etario tiene menos exposición al virus. Otra explicación pudiera ser que en los menores de 6 meses se produjera el fenómeno de ADE a partir de los anticuerpos maternos a dengue y recibidos vía placenta presentes en el niño. (144-146).

En las zonas tropicales y subtropicales de África también circula el virus dengue, aunque se reconoce poco y no se informa lo suficiente. En Nigeria, Sule y cols. en 2019 demostraron que las infecciones secundarias eran predominantes en estudiantes universitarios en un estudio de seroprevalencia en esta población, lo que evidencia la endemidad local del dengue (147)

La alta frecuencia de infecciones secundarias en nuestro estudio puede deberse a mayor ocurrencia de brotes en el país y a la cocirculación de varios serotipos que incrementa la probabilidad de infecciones previas en la población (148).

IV.5. Relación de las variables virológicas, serológicas y sociodemográficas con la evolución clínica de la enfermedad.

La influencia de los factores virológicos, serológicos y clínicos en el dengue pediátrico ha sido ampliamente estudiada en cohortes de Nicaragua, India y Tailandia, lo que ha permitido esclarecer su impacto en la evolución de la enfermedad.

En nuestro estudio, se analizaron las relaciones entre el serotipo, la edad, el tipo de infección, la clasificación clínica, y los signos y síntomas de la enfermedad.

IV.5.1. Relación serotipo y tipo de infección en los pacientes confirmados por RT-PCR.

La Figura 9 muestra la relación entre el serotipo y el tipo de infección. El serotipo 3 se identificó tanto en infecciones primarias (45%; 9/20) como secundarias (40%; 8/20), y mostró una diferencia significativa ($p=0,019$) en las infecciones secundarias en comparación con otros serotipos. Los serotipos 1 y 2 solo se detectaron en infecciones secundarias. Esta distribución sugiere una circulación

limitada de los serotipos 1 y 2 en la población, al momento del estudio y la infección previa por alguno de estos serotipos en los casos secundarios.

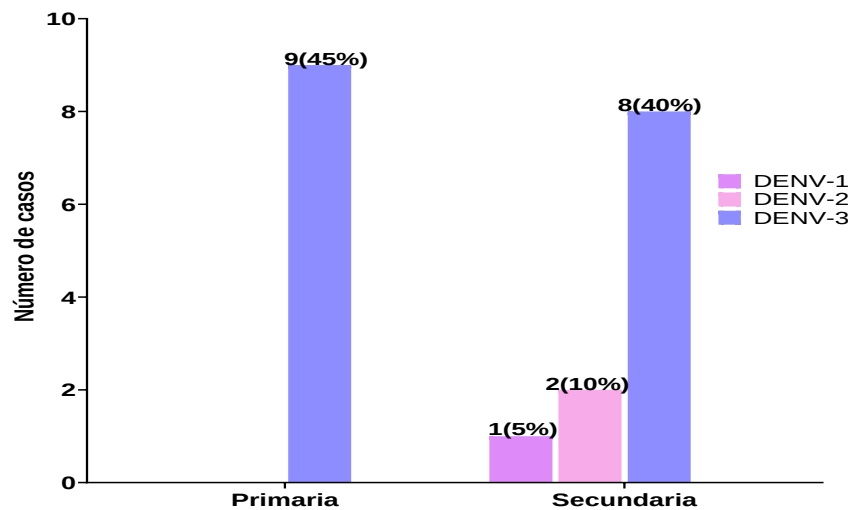


Figura 9. Relación entre serotipo y tipo de infección en los pacientes confirmados por RT-PCR.

Un metanálisis realizado por Soo y cols. (2016) en el sudeste asiático encontró que el dengue 3 se presentaba tanto en infecciones secundarias como en primarias, observando un mayor porcentaje de dengue grave en infecciones secundarias. Este serotipo tanto en regiones del sudeste asiático como en regiones que no pertenecen al sudeste asiático, se asocia a un mayor riesgo de dengue grave en infecciones secundarias (149).

Estudios de la cohorte pediátrica de Nicaragua, como los de Puschnik y cols. (2013) y Narvaez y cols. (2025), también han detectado dengue 3 tanto en infecciones primarias como secundarias sin diferencias significativas entre ellas, lo que refleja su alta circulación (150, 151).

IV.5.2. Relación del tipo de infección y la edad en pacientes confirmados por dengue.

La infección por el virus dengue presenta una dinámica epidemiológica y clínica compleja donde la edad del hospedero y el tipo de infección (primaria o secundaria) interactúan de manera determinante, modulando tanto la susceptibilidad como la gravedad de la enfermedad. Esta interacción representa un eje fundamental en la comprensión de la fisiopatología del dengue especialmente en poblaciones pediátricas (152).

En nuestro estudio, en todos los grupos etarios se demostró tanto la infección primaria como la secundaria. En el grupo de uno a cuatro años la infección primaria se desarrolló en el 42% de los pacientes (13/31) y la infección secundaria en el 58% (18/31), en las edades de cinco a nueve años el 34% de los pacientes tuvieron una infección primaria (33/92) y un 66,3% desarrollo una infección secundaria (61/92). En el grupo de edades de 10 a 14 años desarrollaron una infección del tipo primaria el 31,6% de los niños (25/79) y el 68,3% desarrolló una infección del tipo secundaria (54/79). Los niños que se encontraban entre las edades de 15 a 18 años desarrollaron una infección primaria en el 36% de los pacientes (18/50) y una infección secundaria en el 64% de los casos (32/50). El grupo de cinco a nueve años fue el más frecuentemente significativo tanto en infecciones primarias como secundarias. En los grupos de cinco a nueve, 10 a 14 y 15 a 18 años, la infección secundaria fue significativamente más frecuente y se asoció a la edad de los pacientes ($p=0,0008$, $OR=2,2$, IC 95%: 1,4-3,6; $p=0,003$, $OR=2,1$, IC 95%: 1,3-3,5; $p=0,003$, $OR=2,4$, IC 95%: 1,4-4,5; respectivamente), lo que indica una incidencia de la enfermedad en estas edades (Figura 10).

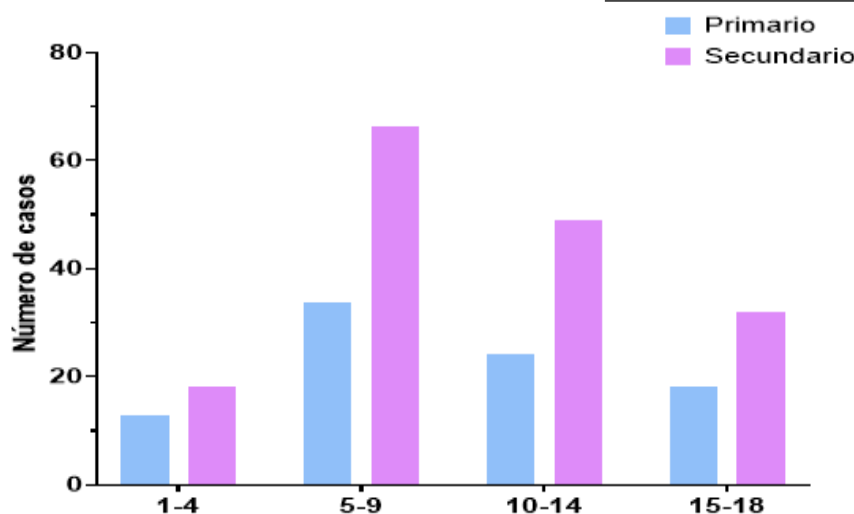


Figura 10. Relación del tipo de infección y la edad en pacientes con infección confirmada por virus dengue.

Numerosos estudios sero-epidemiológicos han identificado la relación existente entre la edad y el estado serológico de los pacientes. El estudio realizado por Prayitino y cols., en 2017 asociaron las edades de cinco a nueve años, 10 a 14 años y de 15 a 18 años con el estado serológico del dengue, indicando una alta transmisión del virus en edades mayores. Estudios realizados por Thai y cols., en 2011 concuerdan con los resultados obtenidos en este estudio. Quienes plantean que los grupos de mayor edad como los niños y adolescentes tienen mayor riesgo de desarrollar una infección secundaria por dengue y dengue sintomático (153, 154).

Otros estudios realizados por Ann y cols., en 2023 señalaron que existe una asociación entre la edad y el desarrollo de la infección secundaria, siendo los niños mayores más propensos a desarrollar una infección del tipo secundaria, debido a una mayor exposición al virus (155).

El estudio realizado en Filipinas por Kywa y cols., en el 2015 plantean que en la población en general la media de la edad para los pacientes que desarrollaron infección primaria fue de 6 años y para aquellos con infección secundaria fue de 70 años, sugiriendo que a mayor edad mayor riesgo de desarrollar infección secundaria. En este estudio los autores también realizaron un análisis sobre el

comportamiento de la infecciones por virus dengue en edades pediátricas, donde la infección primaria fue más frecuente en el grupo de uno a tres años, mientras que la infección secundaria fue más frecuente en el grupo de cuatro a seis años (156).

Entre 2008 y 2011 se registraron pequeños brotes en distintas provincias del país y, durante el período 2012-2022, circularon los cuatro serotipos de dengue, además del virus del Zika (VZIK) (148, 157, 158). En nuestra investigación, los niños con infección secundaria estuvieron expuestos a tres serotipos del VDEN y al VZIK. Tanto los niños de uno a cuatro años como los de cinco a nueve años estuvieron expuestos a VDEN-2, VDEN-1 y VZIK. Estos niños pueden haber desarrollado una infección secundaria caracterizada por las secuencias VDEN-2/VDEN-3, VDEN-1/VDEN-3 VZIK/VDEN-3 donde las dos últimas secuencias se han asociado a formas severas en Cuba y otros países de la región. Se ha descrito que las infecciones secundarias por VDEN-3 se relacionan con la aparición de la FHD. Los niños de 10 a 14 años y de 15 a 18 años fue probable que sufrieran la infección por los virus VDEN-1, VDEN-2, VDEN-4 y VZIK. Tanto en los grupos de 10 a 14 y de 15 a 18 años tienen probabilidades de desarrollar infecciones terciarias o cuaternarias donde la probabilidad de desarrollar DCSA y DG es menor aunque no se descarta el desarrollo de formas severas de la enfermedad (DCSA y DG) , lo que está muy relacionada con la secuencia de infección, donde la secuencia de infección VDEN-1/VDEN-2/VDEN-3 se asociado al desarrollo de FHD y de SCD (159-162).

La gravedad de los niños que desarrollaron infecciones secundarias puede estar influenciada por la exposición anterior a los VDEN-1, VDEN-2, y VZIK

IV.5.3. Relación del tipo de infección y la clasificación clínica en 59 pacientes.

En nuestro estudio, se relacionó la clasificación clínica (dengue con signos de alarma y dengue grave) con el tipo de infección que desarrollaron los 59 pacientes los cuales se clasificaron clínicamente.

En la figura 11 los gráficos circulares muestran la frecuencia de casos de dengue con signos de alarma y dengue grave en infecciones primarias y secundarias por dengue. El número de pacientes en cada grupo se indica en la parte superior del gráfico. La infección grave se observa tanto en la infección primaria como en la secundaria. En la infección primaria no existieron diferencias significativas entre el DG y el DCSA ($p=0.074$, prueba exacta de Fisher), existiendo una mayor proporción de dengue grave en este grupo. El desarrollo de dengue con signos de alarma fue significativamente más frecuente ($p<0,0001$, prueba exacta de Fisher) en la infección secundaria. La infección secundaria estuvo asociada ($OR=24,6$; IC 95%: 8,4-62,4) al desarrollo de dengue con signos de alarma. La frecuencia de casos graves no fue significativamente diferente entre las infecciones primarias y secundarias ($p=0,6$; prueba exacta de Fisher).

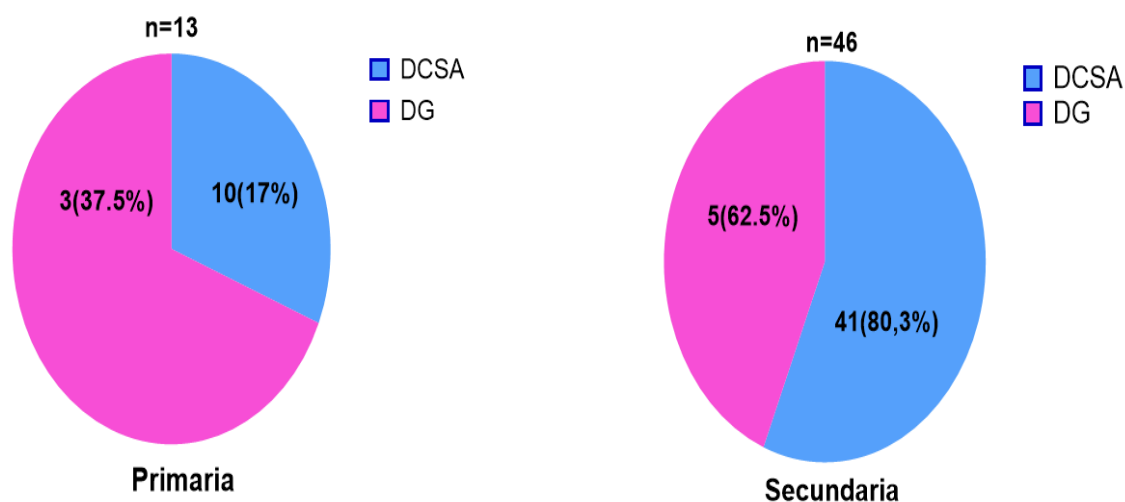


Figura 11. Relación del tipo de infección y clasificación clínica en 59 pacientes.

Los estudios realizados en la India en el 2024 y publicados por Aggarwal y cols., plantean la proporción de infecciones primarias y secundarias y su relación con la gravedad de la enfermedad. En este estudio los autores observaron que el DCSA (primaria: 54,54 %, secundaria: 61,47 %) y el DG (primaria: 33,59 % y secundaria: 31,96 %) se desarrolló tanto en la infección primaria como en la secundaria, con mayor proporción de DCSA (61,47%) en las infecciones secundarias, donde la

infección secundaria está asociada al desarrollo de la infección por DCSA. Los investigadores también observaron una mayor proporción de DG en las infecciones primarias en comparación con el DG en las infecciones secundarias. En este mismo estudio compararon la infección primaria y secundaria con la clasificación clínica de la OMS de 2009 y la clasificación clínica de la OMS de 1997 y observaron que con la clasificación clínica anterior se desarrollaba la FHD y el síndrome de choque por dengue tanto en la infección primaria como en la secundaria, con un predominio del choque por dengue en la infección secundaria (43,80 %) y menor proporción de FHD (17,14%). En los casos primarios observaron una mayor proporción de choque por dengue (30,30%) y menor proporción FHD (18,18%). Existió mayor proporción de choque por dengue en la infección secundaria, mientras que la FHD en las infecciones secundarias tuvo una mayor proporción en comparación con las infecciones primarias (163).

Otro estudio realizado en la India evaluó los factores virológicos e inmunológicos que se correlacionaban con la enfermedad grave por dengue en una cohorte de pacientes pediátricos de Nueva Delhi. El dengue con signos de alarma y el dengue grave se observaron tanto en la infección primaria como en la secundaria, el 31% de las infecciones primarias causaron dengue grave (164).

En un estudio de metanálisis realizado en 2023 y publicado Sandiniwan y cols., plantea que la infección secundaria está asociada con la progresión a dengue grave (30). Otro estudio realizado en Taiwán en 2024, que analizó el papel de la infección secundaria en los casos graves de dengue, evidenció una asociación significativa entre la infección secundaria y el desarrollo de dengue grave, especialmente cuando el intervalo entre la primera y la segunda infección superó los dos años. Además, se observó que la secuencia de infección VDEN-2/VDEN-1 se asoció con una mayor probabilidad de desarrollar formas graves de la enfermedad (165).

IV.5.4. Relación entre los signos de alarma el tipo de infección y la edad en niños con DCSA.

En nuestro estudio los signos de alarma se observan tanto en la infección primaria como en la secundaria exceptuando el letargo, y la hepatomegalia que solo se observaron en las infecciones secundarias. Los vómitos, el dolor abdominal) y la acumulación clínica de líquido fueron significativamente más frecuentes en la infección secundaria, la cual estuvo asociada al desarrollo de estos signos de alarma ($p < 0,0001$, $OR = 7,8$ IC 95%: 2,8-21,2; $p = 0,0002$, $OR = 7$, IC 95%: 2,5-18,7; $p = 0,001$ $OR = 6,4$, IC 95%: 2,0-18,4 respectivamente). Estos signos de alarma son indicativos del incremento en la permeabilidad vascular fenómeno fundamental en el desarrollo del dengue hemorrágico según la clasificación de la OMS de 1997. El sangrado de mucosas, el aumento del hematocrito y la lipotimia tuvieron una tendencia al aumento, aunque sin significación estadística debido al tamaño reducido de la muestra (Figura 12). Los vómitos, el dolor abdominal y la acumulación clínica de líquidos fueron significativamente más frecuentes en el grupo de cinco a nueve años ($p = 0,0084$; $p = 0,0011$; $p = 0,0006$, respectivamente). La edad se asoció al desarrollo de estos signos ($OR = 4,8$; IC 95%: 1,5-13,8; $OR = 14,4$, IC 95%: 2,8-70; $OR = 14,6$, IC 95%: 3,0-69,5; respectivamente). El sangrado de mucosas y el aumento del hematocrito también fueron frecuentes en este grupo, con una tendencia a la significación estadística no alcanzada posiblemente debido al tamaño muestral. (Figura 13)

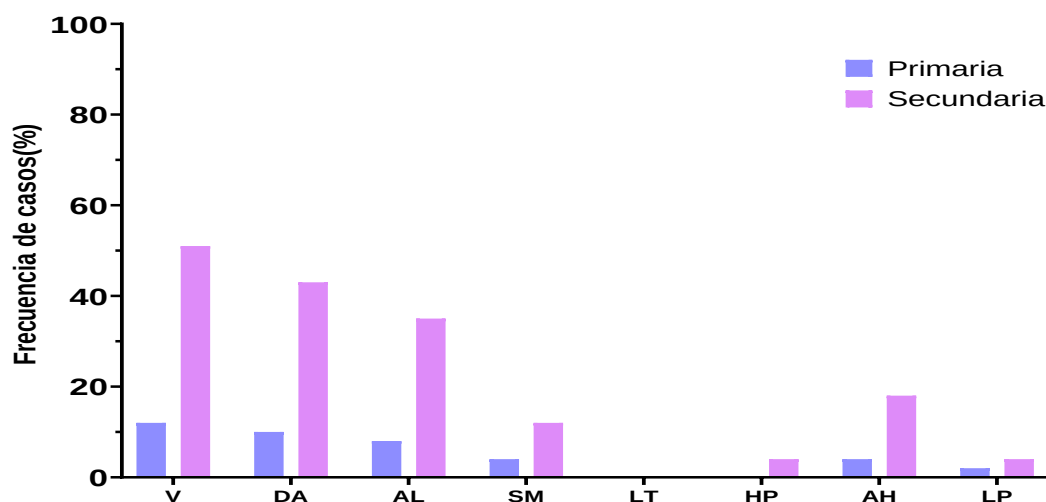


Figura 12. Relación del tipo de infección y signos de alarma en niños con DCSA. **Abreviaturas:** V: Vómitos; DA: Dolor abdominal; AL: Acumulación de líquido; SM: Sangrado de mucosas; HP: Hepatomegalia; AH: Aumento del HTO; LP: Lipotimia; LT: Letargo.

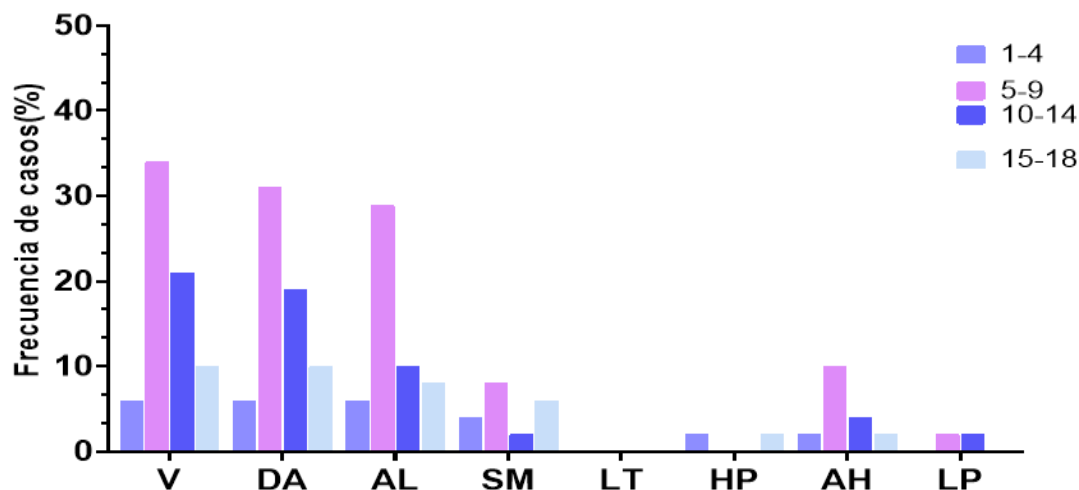


Figura 13. Relación de la edad y los signos de alarma en niños con DCSA.

Abreviaturas: V: Vómitos; DA: Dolor abdominal; AL: Acumulación de líquido; SM: Sangrado de mucosas; HP: Hepatomegalia; AH: Aumento del HTO; LP: Lipotimia; LT: Letargo.

Los resultados del presente estudio permiten identificar patrones clínicos diferenciales entre la infección primaria y secundaria por el virus dengue, destacando la mayor gravedad asociada a la infección secundaria, un hallazgo ampliamente respaldado por la evidencia científica actual.

Estudios prospectivos han demostrado que los pacientes con infección secundaria por dengue presentan con mayor frecuencia signos como dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, acumulación clínica de líquidos, letargo o irritabilidad, en comparación con quienes presentan una infección primaria. Estos síntomas reflejan directamente el aumento de la permeabilidad vascular, un proceso fisiopatológico que se intensifica en las reinfecciones debido a la tormenta de citocinas (166, 167).

Un estudio realizado en Vietnam en 2023 por Phadungsombat y cols., reveló que el sangrado de mucosa fue significativamente más frecuente en infecciones secundarias, y se asoció con trombocitopenia profunda y marcadores de

activación endotelial. Por su parte, Jayathilaka y cols., (2018) demostraron que la hepatomegalia es un marcador clínico asociado a infecciones secundarias y a un mayor riesgo de evolución grave (168, 169).

En nuestra serie, la ausencia de letargo y hepatomegalia en infecciones primarias coincide con lo reportado por Trang y cols., en 2022, quienes en una revisión sistemática identificaron la hepatomegalia como un signo significativamente asociado a formas graves de la enfermedad, más prevalentes en las infecciones secundarias (170).

Diversos estudios han identificado predictores clínicos específicos que se asocian con un mayor riesgo de dengue grave en pacientes pediátricos. Entre ellos destacan la hepatomegalia, el hematocrito elevado ($>45\%$) y un recuento plaquetario inferior a $50,000/\mu\text{L}$. Además, síntomas como vómitos y letargo se han relacionado con el deterioro clínico agudo en niños pequeños, lo que exige una evaluación rápida y una intervención temprana (171-173).

Un estudio de Byrne y cols., (2017) mostró que los niños entre 4 y 6 años tienen mayor probabilidad de desarrollar formas graves de la enfermedad en comparación con los adultos, lo que subraya la necesidad de una vigilancia estrecha en este grupo etario. Así mismo, signos de alarma como vómitos persistentes, letargo y dolor abdominal agudo son más comunes en niños pequeños, por lo que es crucial que los profesionales de la salud estén capacitados para reconocerlos oportunamente (174).

En niños de dos a cinco años, signos como la hepatomegalia y evidencias de aumento de la permeabilidad vascular (ascitis o derrame pleural) tienden a ser más marcados. Estos hallazgos se han correlacionado con una mayor gravedad de la enfermedad en este grupo etario (171, 175).

IV.5.6. Relación de los signos de gravedad con el tipo de infección y la edad en los niños con DG.

El DG puede desarrollarse en todos los grupos de edad, independientemente del tipo de infección, aunque la gravedad se observa con mayor frecuencia en el curso de una infección secundaria. La relación entre los signos de gravedad y los grupos de edad pediátrica, así como el tipo de infección por dengue, es multifacética y requiere un análisis exhaustivo de factores demográficos, clínicos e inmunológicos. Los niños son particularmente vulnerables al dengue y sus presentaciones clínicas pueden variar significativamente con la edad lo que resalta la importancia de estrategias de diagnóstico y tratamiento específico para cada edad (176).

La Figura 14 muestra la relación entre el tipo de infección y los signos de gravedad. El choque fue más frecuente en la infección secundaria, aunque sin alcanzar significación estadística debido posiblemente al tamaño de la muestra.

En nuestro estudio, todos los grupos etarios presentaron signos de gravedad, con una tendencia al aumento en los grupos de cinco a nueve, 10 a 14 y 15 a 18 años, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, ya que solo ocho niños desarrollaron dengue grave posiblemente por la aplicación de la clasificación clínica y el manejo oportuno y adecuado de los casos (Figura 15).

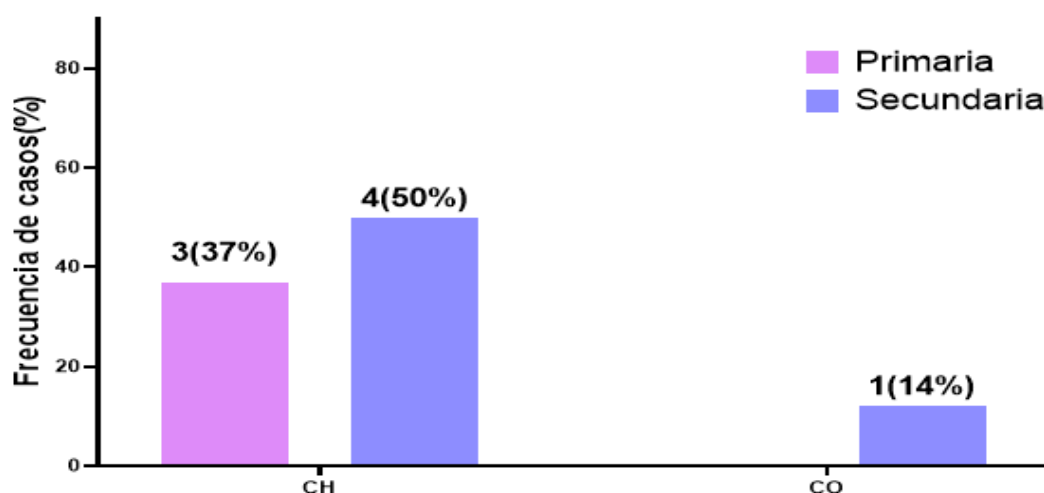


Figura 14. Relación del tipo de infección y el signo de gravedad en niños con DG.

Abreviatura: CH: Choque; CO: Compromiso de órganos.

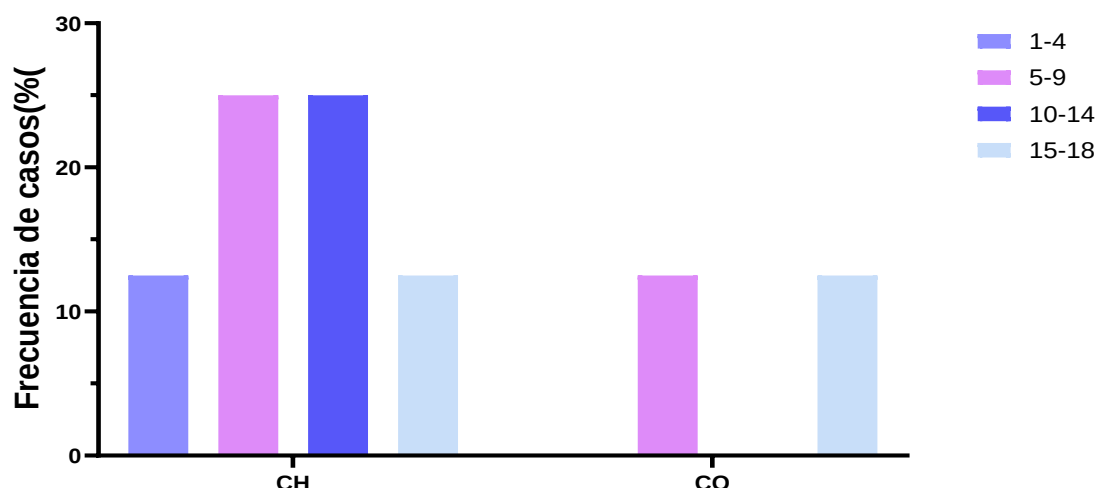


Figura 15. Relación de la edad y el signo de gravedad en niños con DG. **Abreviatura:** CH: Choque; CO: Compromiso de órganos.

Investigaciones recientes sugieren una transición epidemiológica en las infecciones por dengue, donde se ha observado un aumento en la incidencia de casos graves entre niños mayores y adolescentes, lo que contrasta con datos históricos que indican que los niños menores de cinco años se vieron afectados con mayor frecuencia por manifestaciones graves. Esta tendencia exige una reevaluación de las estrategias de prevención y control, centrándose en los diferentes factores de riesgo y presentaciones clínicas según la edad y el historial de exposición al virus (177, 178).

La literatura identifica una mayor incidencia de choque en niños que experimentan una infección secundaria por dengue, donde la exposición previa a un serotipo diferente del dengue aumenta la susceptibilidad (179).

Los estudios realizados por Kazi y cols., en 2020 demuestran la variabilidad de ocurrencia del choque según el grupo etario, los niños más pequeños especialmente los menores de cinco años presentan un riesgo mayor debido a un sistema inmune poco desarrollado (180).

Otros estudios reflejan que los niños de uno a nueve años representan una proporción sustancial de casos graves, desarrollando fundamentalmente choque lo que indica una mayor vulnerabilidad en este grupo etario (181).

La interacción entre el choque, la afectación orgánica y el tipo de infección por dengue en niños subraya la necesidad de enfoques clínicos personalizados basados en la edad, la exposición al serotipo y las particularidades de la patología del dengue.

IV.5.6.1. Relación de la edad y los signos de gravedad en los niños con DG que tuvieron infección primaria.

La Figura 16 relaciona la frecuencia de choque y compromiso de órganos en casos de infección primaria según la edad. Los hallazgos de este estudio revelan que, en los casos de dengue grave asociados a infección primaria, el choque se presentó en niños de cuatro, nueve, y 12 años, mientras que el compromiso de órganos se observó únicamente en un paciente de nueve años. No se observaron diferencias significativas entre los grupos. Estos resultados ofrecen una perspectiva valiosa sobre cómo la edad y el tipo de infección pueden modular la expresión clínica de las formas graves del dengue en la población pediátrica, incluso en ausencia de una infección secundaria.

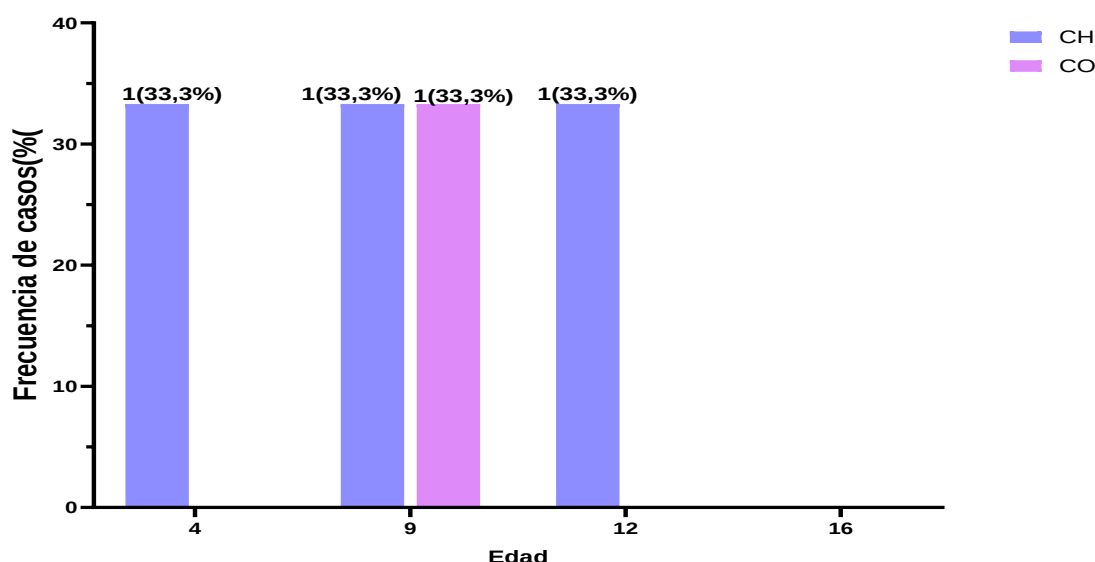


Figura 16. Relación de la edad y el signo de gravedad en niños con DG. **Abreviatura:** CH:

Choque; CO: Compromiso de órganos.

La presencia de choque en edades dispares en el contexto de una infección primaria sugiere la existencia de otros factores como la presencia de anticuerpos a otros virus que pueden potenciar los mecanismos inmunopatológicos de la enfermedad, la introducción de mutaciones en el genoma viral que aumenten la patogenicidad del virus, la raza/etnicidad y los antecedentes patológicos que pueden influir en la respuesta inmune del hospedero.

El VDENV-3 especialmente el genotipo III y el sublinaje americano II, ha mostrado una capacidad particular para causar cuadros graves. Entre 2019 y 2025, evidencias han vinculado este sublinaje con un aumento en los ingresos en unidades de cuidados intensivos, mayor frecuencia de síndrome de choque por dengue y falla multiorgánica. Esta variante ha ido desplazando a otras cepas en América Latina, coincidiendo con brotes graves en Brasil, Colombia y Perú (182).

Desde hace años se conoce que el genotipo III de VDENV-3 se ha asociado con brotes de dengue hemorrágico y choque en América y Asia, lo que pudiera sugerir un mayor potencial virulento de determinados linajes dentro de este genotipo

Análisis filogenómicos recientes de VDENV-3 en las Américas muestran que el linaje GIII-americano-II es un descendiente de genotipo III que ha participado en grandes epidemias y que ha reemplazado a otros linajes, lo que sugiere mayor replicación y transmisión (141).

Trabajos clásicos y recientes muestran que el genotipo III de VDENV-3 se ha vinculado con epidemias particularmente severas y que pequeñas variaciones genéticas en el virus pueden aumentar la virulencia y ampliar el rango de tejidos afectados, lo que es coherente con la idea de una mayor patogenicidad del virus dentro de este grupo (183).

Los virus SARS-CoV-2 y dengue no son filogenéticamente cercanos; sin embargo, la proteína Spike (S) de SARS-CoV-2 y la proteína de envoltura (E) de DENV presentan homología local de 6-8 residuos clave en dominios de unión a

receptores en la célula. Esta semejanza es suficiente para inducir anticuerpos IgG que reaccionan de forma cruzada en ELISAS rápidos y, lo más relevante, pueden unirse a proteínas virales heterólogas *in vivo* (184).

Estudios en Pakistán en el 2022 plantean que la infección previa por Covid-19 puede aumentar el riesgo de dengue grave (185). Otros estudios realizados en India en población pediátrica en 2022 plantean que la presencia de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 facilitan la entrada del virus dengue en la célula hospedera, causando así un aumento de la carga viral y una enfermedad grave (186).

En nuestro estudio de los niños que presentaron dengue grave en la infección primara dos son mestizos y uno es de color de piel blanca. Varios estudios apoyan el mayor riesgo de gravedad en individuos europoides que negroides. Se necesitan realizar estudios donde se relacione la raza/etnicidad de los pacientes del estudio con la gravedad de la enfermedad considerando la clasificación de la OMS de 2009.

La asociación entre raza/etnicidad y la gravedad del dengue muestra evidencia epidemiológica consistente de que individuos de ascendencia africana presentan menor riesgo de FHD o choque por dengue comparados con aquellos de ascendencia europea o mestiza, aunque esta relación se ve modulada por factores socioeconómicos, genéticos y ambientales (187).

Estudios en Cuba realizados en 2007 por Sierra y cols., donde se relacionó la raza con las manifestaciones clínica y con la respuesta inmunitaria del hospedero, se planteó que los individuos de ascendencia africana presentan menor riesgo de dengue hemorrágico comparados con aquellos de ascendencia europea o mestizo (188).

Estudios de cohorte en Colombia realizado por Restrepo y cols., en 2010 compararon las manifestaciones clínicas y la respuesta inmune del hospedero con la raza. En este estudio se observó mayor proporción de FHD en mestizos que en afrodescendientes (189).

El choque por dengue en la primoinfección ya no puede explicarse solo por la edad o la deficiencia inmunitaria. La evidencia reciente convierte al virus y al hospedero en una ecología de riesgos: la irrupción del genotipo III-americano II de VDEN-3 su influencia en el desarrollo epidemias donde son frecuentes las manifestaciones graves de la enfermedad. La reactividad cruzada SARS-CoV-2-dengue actúa como acelerador, facilitando la entrada del virus a la célula hospedera. La predisposición étnica está involucrada en la respuesta inmunitaria del hospedero (182, 186, 188).

Nuestro estudio analizó de forma integral las características epidemiológicas, virológicas, inmunológicas y clínicas de una serie de casos pediátricos confirmados de dengue, proporcionando una visión detallada de la infección en una población altamente vulnerable durante un periodo de intensa transmisión viral. El predominio del grupo etario de cinco a nueve años, seguido del de 10 a 14 años, sugiere una exposición temprana al virus, posiblemente relacionada con la pérdida de inmunidad materna y el incremento de la movilidad escolar, factores que favorecen la transmisión viral intra y peridomiciliaria (28). La distribución equitativa por sexo, con un ligero predominio femenino, resalta que la exposición al vector constituye el principal factor de riesgo, por encima de variables biológicas asociadas al sexo. La divergencia con otros estudios nacionales sugiere que la dinámica de la infección está fuertemente modulada por factores locales, como la exposición inmunológica previa de la comunidad y la circulación histórica de serotipos.

El predominio del serotipo 3 no constituye un evento aislado, sino que forma parte de una tendencia regional y global del incremento en la transmisión de este serotipo. Su detección en el presente estudio coincide con los reportes de vigilancia nacional la que documentan la circulación simultánea de múltiples serotipos desde 2022. La reintroducción y la rápida expansión del VDEN-3, frecuentemente asociada al genotipo III (linaje americano-II), ha sido reportada en Brasil, Nicaragua, Costa Rica y Puerto Rico. Este patrón sugiere una ventaja competitiva de dicho linaje, posiblemente derivada de una mayor eficiencia de

transmisión. La ausencia de VDEN-4 y la escasa detección de VDEN-1 y VDEN-2 podrían reflejar un desplazamiento competitivo o la presencia de una inmunidad previa en los casos secundarios, lo que dejaría a una amplia proporción de la población pediátrica susceptible a otros serotipos del virus .

La elevada frecuencia de infecciones secundarias constituye un hallazgo epidemiológico clave, pues refleja la endemidad y la cocirculación histórica de diferentes serotipos en el área de estudio. Desde el punto de vista fisiopatológico, la infección secundaria representa el sustrato principal para el ADE, que incrementa la carga viral y promueve una respuesta inmunopatológica exacerbada. En nuestro estudio, las infecciones secundarias se asociaron significativamente con una mayor frecuencia de DCSA y con la aparición de manifestaciones clínicas específicas como dolor abdominal, vómitos persistentes y acumulación de líquidos, síntomas sugestivos de incremento de permeabilidad vascular, fenómeno asociado al dengue hemorrágico. Estos resultados respaldan el modelo patogénico clásico, en el cual la respuesta inmune de memoria, en lugar de proteger, potencia la gravedad durante una infección heteróloga.

Aunque la infección secundaria mostró una fuerte asociación con los casos de DCSA, no se observó una relación estadísticamente significativa con la aparición de DG en comparación con la infección primaria, aunque esto no descarta la aparición de casos graves en la infección primaria. Este hallazgo, congruente con estudios recientes en la India, sugiere que, si bien la infección secundaria incrementa el riesgo de formas sintomáticas, con signos de alarma y el desarrollo de FHD, la evolución hacia cuadros graves podría depender de otros factores adicionales, como la no llegada a tiempo a los servicios hospitalarios, la influencia de las comorbilidades, la virulencia intrínseca del serotipo infectante, la carga viral, la edad, la raza y el estado inmunológico basal del paciente. Se identificó, además, una relación clara entre la edad y el tipo de infección: la infección secundaria fue significativamente más frecuente en los grupos de cinco a nueve, 10 a 14 y 15 a 18 años, lo que refleja una acumulación progresiva de exposición viral. De manera concordante, los signos de alarma más severos se observaron

con mayor frecuencia en el grupo de cinco a nueve años, el mismo que presentó más infecciones secundarias. Esta combinación de factores (edad escolar e infección secundaria) define el perfil clínico de mayor riesgo dentro de la cohorte analizada.

En conjunto, los resultados del presente estudio evidencian una situación epidemiológica compleja y clínicamente relevante: el resurgimiento del VDEN-3 está ocasionando un brote en población pediátrica predominantemente escolar, la alta frecuencia de infecciones secundarias explica la mayor prevalencia de signos de alarma. La interacción entre la edad, el tipo de infección y el linaje viral potencialmente más patogénico define los grupos de mayor riesgo clínico. Finalmente, la ocurrencia de dengue grave en primoinfecciones obliga a ampliar el marco fisiopatológico tradicional, incorporando la virulencia intrínseca del virus y la posible influencia de la inmunidad cruzada inducida por otros patógenos.

Numerosos estudios han asociado la infección secundaria al desarrollo de la FHD comportándose como un factor de riesgo principal de la misma. Aunque está demostrado el desarrollo de casos de FHD en el curso de una infección primaria, el riesgo es significativamente menor que durante la infección secundaria. Al comparar los porcentajes de casos con infección primaria en casos de fiebre del dengue y casos de dengue hemorrágico se observa el mayor porcentaje de casos primarios en los primeros y de los secundarios en los segundos. En nuestro estudio, en los 59 pacientes con DCSA y DG, 46 fueron casos secundarios predominando sobre la infección primaria. Una de las limitaciones de nuestro trabajo es que no pudimos comparar el tipo de infección por dengue (primaria o secundaria) en casos de dengue sin signos de alarma (casos leves de la enfermedad) con casos de DCSA y DG, debido a que los primeros no fueron hospitalizados. Esto no nos permitió comparar como se comportó el tipo de infección en la población pediátrica que presentó la enfermedad leve y aquella con signos de alarma y dengue grave.

Capítulo V. Conclusiones

- ✓ La confirmación etiológica de casos de dengue con signos de alarma y dengue grave en la población pediátrica, después de varias décadas sin observar formas severas, reafirma la importancia del diagnóstico virológico temprano.
- ✓ La identificación del serotipo 3 como el principal agente etiológico y la introducción de un nuevo linaje y su asociación a formas severas de la enfermedad sugiere un cambio en la dinámica del virus en el país.
- ✓ El predominio de la infección secundaria frente a la primaria, y su relación con los casos de dengue con signos de alarma, refuerzan la hipótesis de que la inmunidad previa es un factor determinante en la patogénesis y severidad del dengue en niños.
- ✓ La observación de una mayor gravedad clínica en el grupo etario de cinco a nueve años evidencia una vulnerabilidad particular en estas edades, lo que sugiere orientar estrategias preventivas y de vigilancia hacia este grupo poblacional.
- ✓ La asociación entre el serotipo 3, la infección secundaria y el grupo etario de cinco a nueve años pone de manifiesto el carácter multifactorial del dengue y subraya la importancia de considerar simultáneamente los factores virológicos, inmunológicos y demográficos para comprender y controlar la enfermedad.

Capítulo VI. Recomendaciones.

- ❖ Determinar el tipo de infección en pacientes con dengue sin signos de alarma y la secuencia de infección en el grupo anterior y en pacientes con signos de alarma y dengue grave.
- ❖ Estudiar otros factores de gravedad como comorbilidades, etnia, antecedentes de infección por SARS-CoV-2 entre otros que pudieran explicar la gravedad observada en los pacientes de DCSA y DG con infección primaria.
- ❖ Realizar la secuenciación del genoma completo a las muestras identificadas con el serotipo 3 y asociarlas a la evolución clínica de los pacientes y la patogenia de la enfermedad.

Referencias Bibliográficas

1. Silverio-Calderón C. Dengue: actualidades, características clínicas epidemiológicas y prevención. RCS. 2023;6(11 Ed. esp.):2-17. Disponible en: <https://orcid.org/0000-0003-3587-4149>
2. World Health Organization. Dengue y dengue grave <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue2024>
3. Kularatne SA. Dengue fever. BMJ. 2015;351:h4661. Disponible en: <https://orcid.org/10.1136/bmj.h4661>
4. Rodríguez-Gómez JH. Dengue con signos de alarma: características clínicas. Rev Salud amazónica bienestar. 2022;1(2): e399. Disponible en: <https://doi.org/10.51252/rsayb.v1i2.399>
5. Pang T, Cardoso MJ, Guzman MG. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). Immunol Cell Biol. 2007;85(1):43-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.icb.7100008>
6. Guzman MG, Kouri G. Dengue haemorrhagic fever integral hypothesis: confirming observations, 1987–2007. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008;102(6):522-3. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.03.001>
7. Halstead SB. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. Adv Virus Res.2003; 60:421-67. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0065-3527\(03\)60011-4](https://doi.org/10.1016/s0065-3527(03)60011-4)
8. Cabrera M, Taylor G. Modelling spatio-temporal data of dengue fever using generalized additive mixed models. Spat Spatiotemporal Epidemiol. 2019; 28:1-13. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sste.2018.11.006>

9. 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. Rev Cuba Med Tropical[Internet]. 2019[citado 17 mrz 2025];71(1):1-31. Disponible en: <https://revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/338>
10. Guzmán M, Álvarez Valdés Á, Alfonso Berrio L, Álvarez Vera M, Baly Gil A, Betancourt Ferre D, et al. Dengue. La Habana: ECIMED; 2016. 512 p.
11. Organización Mundial de la Salud. Expansión geográfica de los casos de dengue y chikungunya más allá de las áreas históricas de transmisión en la Región de las Américas[Internet]. Ginebra: OMS; 2023[citado 16 marzo 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON4482023>
12. Millan MM, Vera M, Pérez L, Benítez AJ, Alvarez S, García I, et al. Emergence of a New Lineage of Dengue 3 Virus in Cuba. Curr Trop Med Rep. 2025;12(11):1-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40475-025-00343-5>
13. Álvarez M. Resultados de la vigilancia molecular de dengue. Laboratorio Nacional de Referencia de Arbovirus. 2022. IPK. Comunicación verbal.
14. Martínez GCB, Morales OQ. Dengue. Revisión bibliográfica. Acta Méd Centro[Internet]. 2013[citado 16 mrz 2025];7(1): 96-108. Disponible en: <https://revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/106>
15. Simmonds P, Becher P, Bukh J, Gould EA, Meyers G, Monath T, et al. ICTV virus taxonomy profile: Flaviviridae.J Gen Virol. 2017;98(1):2-3. Disponible en: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000672>
16. Laredo-Tiscareño SV, Guo X, Bocanegra-García V. Virus del Dengue: estructura de serotipos y epidemiología molecular. CienciaUAT[Internet]. 2012[citado 16 marzo 2025];6(3):27-33. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=441942927002>

17. Lage RJ, Graña TH, Johnson BS, Torres Z. Aspectos actualizados sobre dengue. Rev Inf Cient[Internet]. 2015[citado 16 mrz 2025];90(2):374-90. Disponible en: <https://revinfcientifica.sld.cu/index.php/ric/article/view/256>
18. Guzmán Tirado MG. Historia y emergencia del dengue y dengue hemorrágico como un problema de salud mundial. En: Guzmán M, Álvarez Valdés Á, Alfonso Berrio L, Álvarez Vera M, Baly Gil A, Betancourt Ferre D, et al. Dengue. La Habana: ECIMED; 2016. p. 3-9.
19. Gulbler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. Clin Microbiol.1998;11(3) :480-496. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/cmr.11.3.480>
20. Quintos F, Lim LE, Juliano L, Reyes A, Lacson PJPJP. Hemorrhagic fever observed among children in the Philippines. Phil J Pedia. 1954;3(3):1-19.
21. Halstead SB. Epidemiological studies of Thai haemorrhagic fever, 1962-64. Bull World Health Organ[Internet]. 1966[citado 15 marzo 2025];35(1):80-81. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2476164/>
22. Guedes L. Evolução da dengue no mundo. Arquivos[Internet]. 2019[citado 16 marzo 2025]; 1(28). Disponible en: <https://www.faculdadedelta.edu.br/revistas3/index.php/qt/article/view/4>
23. Cabezas C, Fiestas V, García-Mendoza M, Palomino M, Mamani E, Donaires F. Dengue en el Perú: a un cuarto de siglo de su reemergencia. Rev Peru Med Exp Salud Publica[Internet]. 2015[citado 16 marzo 2025]; 32:146-56. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36338592021>
24. Olajide OB, Olajide JS, Olasehinde O. General Perspectives on Dengue Fever. Clin Microbiol Newsl. 2024; 49:1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2024.09.002>
25. Zerfu B, Kassa T, Legesse M. Epidemiology, biology, pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis of dengue virus infection, and its trend in Ethiopia: a

comprehensive literature review. Trop Med Health. 2023;51(1):11. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00504-0>

26. Organización Panamericana de la Salud. Informe. Situación epidemiológica del dengue en las Américas. Semana epidemiológica 21[Internet]. Washington, D.C: OPS; 2024[citado 16 marzo 2025]. Disponible en: https://ais.paho.org/ArboPortal/AME_DENG_Situation_Report_SP_2024.asp?env=pri

27. Kourí G, Guzmán MG, Valdés L, Carbonel I, Del Rosario D, Vazquez S, et al. Reemergence of dengue in Cuba: a 1997 epidemic in Santiago de Cuba. Emerg Infect Dis. 1998;4(1):89-92. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid0401.980111>

28. Guzmán MG, Kouri G. Dengue: an update. The Lancet infectious diseases. 2002;2(1):33-42. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(01\)00171-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(01)00171-2)

29. Velandia ML, Castellanos JE. Dengue virus: structure and viral cycle. Infect[Internet]. 2011[citado 16 marzo 2025];15(1):33-43. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922011000100006&lng=en

30. Sandinirwan I, Muslim B, Leo H, Hasanah H, Karina PP. Clinical manifestation and laboratory parameters associated with progression to severe dengue in children: a systematic review and meta-analysis. medRxiv. 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.1101/2023.01.24.23284985>

31. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. 2010;8(Suppl 12): S7-S16. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2460>

32. Weaver SC, Vasilakis N. Molecular evolution of dengue viruses: contributions of phylogenetics to understanding the history and epidemiology of the preeminent arboviral disease. Infect Genet Evol. 2009;9(4):523-40. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.02.003>

33. Murugesan A, Manoharan M. Dengue Virus. En Mustapha M, editors. Emerging and Reemerging Viral Pathogens. Londres:Elsevier Inc; 2020.p. 281–359. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819400-3.00016-8>
34. Roy SK, Bhattacharjee SJCjom. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology. Can J Microbiol. 2021;67(10):687-702. Disponible en: <https://doi.org/10.1139/cjm-2020-0572>
35. Byk LA, Gamarnik AVJArov. Properties and functions of the dengue virus capsid protein. Annu Rev Virol. 2016;3(1):263-81. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042334>
36. Nasar S, Rashid N, Iftikhar SJJomv. Dengue proteins with their role in pathogenesis, and strategies for developing an effective anti-dengue treatment: A review.J Med Virol. 2020;92(8):941-55. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jmv.25646>
37. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. Nat Rev Dis Primers. 2016;2(1):16055. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.55>
38. Amorim JH, dos Santos Alves RP, Boscardin SB, de Souza Ferreira LCJVr. The dengue virus non-structural 1 protein: risks and benefits. Virus Res. 2014;181: 53-60. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.01.001>
39. Chen H-R, Lai Y-C, Yeh T-M. Dengue virus non-structural protein 1: a pathogenic factor, therapeutic target, and vaccine candidate. J Biomed Sci. 2018; 25:1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0462-0>
- 40.Li Q, Kang C. Structures and dynamics of dengue virus nonstructural membrane proteins. Membranes (Basel). 2022;12(2):231. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/membranes12020231>

41. Norazharuddin H, Shin N. Roles and prospects of dengue virus non-structural proteins as antiviral targets: an easy digest. Malays J Med Sci. 2018;25(5):6. Disponível en: <https://doi.org/10.21315/mjms2018.25.5.2>
42. Reddy SBG, Chin W-X, Shivananju NSJBp. Dengue virus NS2 and NS4: Minor proteins, mammoth roles. Biochem Pharmacol. 2018; 154:54-63. Disponível en: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.04.008>
43. Sahili El A, Lescar J. Dengue virus non-structural protein 5. Viruses. 2017;9(4):91. Disponível en: <https://doi.org/10.3390/v9040091>
44. Hill V, Cleemput S, Pereira JS, Gifford RJ, Fonseca V, Tegally H, et al. A new lineage nomenclature to aid genomic surveillance of dengue virus. PLoS Biol. 2024;22(9): e3002834. Disponível en: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002834>
45. Pollett S, Melendrez M, Berry IM, Duchêne S, Salje H, Cummings D, et al. Understanding dengue virus evolution to support epidemic surveillance and counter-measure development. Infect Genet Evol 2018; 62:279-95. Disponível en: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.032>
46. Villabona-Arenas CJ, Zanolto PMdA. Worldwide Spread of Dengue Virus Type 1. Plos One. 2013;8(5): e62649. Disponível en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062649>
47. Souza UJB, Macedo Y, Santos RND, Cardoso FDP, Galvão JD, Gabev EE, et al. Circulation of Dengue Virus Serotype 1 Genotype V and Dengue Virus Serotype 2 Genotype III in Tocantins State, Northern Brazil, 2021-2022. Viruses. 2023;15(11): 2136. Disponível en: <https://doi.org/10.3390/v15112136>
48. Nyathi S, Rezende IM, Walter KS, Thongsripong P, Mutuku F, Ndenga B, et al. Geographic origin and evolution of dengue virus serotypes 1 and 3 circulating in Africa. Virus Evol. 2024;11(1): veae116. Disponível en: <https://doi.org/10.1093/ve/veae116>

49. OhAinle M, Balmaseda A, Macalalad AR, Tellez Y, Zody MC, Saborío S, et al. Dynamics of dengue disease severity determined by the interplay between viral genetics and serotype-specific immunity. *Sci Transl Med*. 2011;3(114):114ra28. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003084>
50. Sun J, Zhang H, Tan Q, Zhou H, Guan D, Zhang X, et al. The epidemiological characteristics and molecular phylogeny of the dengue virus in Guangdong, China, 2015. *Sci Rep*. 2018;8(1):9976. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28349-2>
51. Leng XY, Zhao LZ, Liao L, Jin KH, Feng JM, Zhang FC. Genotype of dengue virus serotype 1 in relation to severe dengue in Guangzhou, China. *J Med Virol*. 2024;96(5): e29635. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jmv.29635>
52. Waman VP, Kolekar P, Ramtirthkar MR, Kale MM, Kulkarni-Kale U. Analysis of genotype diversity and evolution of Dengue virus serotype 2 using complete genomes. *PeerJ*. 2016;4: e2326. Disponible en: <https://doi.org/10.7717/peerj.2326>
53. Gräf T, Ferreira CDN, de Lima GB, de Lima RE, Machado LC, Campos TL, et al. Multiple introductions and country-wide spread of DENV-2 genotype II (Cosmopolitan) in Brazil. *Virus Evol*. 2023;9(2): vead059. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ve/vead059>
54. Yenamandra SP, Koo C, Chiang S, Lim HSJ, Yeo ZY, Ng LC, et al. Evolution, heterogeneity and global dispersal of cosmopolitan genotype of Dengue virus type 2. *Sci Rep*. 2021;11(1):13496. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92783-y>
55. Yung C-F, Lee K-S, Thein T-L, Tan L-K, Gan VC, Wong JG, et al. Dengue serotype-specific differences in clinical manifestation, laboratory parameters and risk of severe disease in adults, Singapore. *Am J trop Med Hyg*. 2015;92(5):999. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0628>

56. Hernández-García E, de Lourdes Muñoz M, David RE, Pérez-Ramírez G, Navarrete-Espinosa J, Díaz-Badillo Á, et al. Epidemiological implications of the genetic diversification of dengue virus (DENV) serotypes and genotypes in Mexico. *Infect Genet Evol.* 2020;84: 104391. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104391>
57. Tarazona-Castro Y, Aguilar-Luis MA, Silva-Caso W, Watson H, Zavaleta-Gavidia V, Aquino-Ortega R, et al. Genotypic diversity and molecular characterization of DENV-2 in a Peruvian endemic region from 2016 to 2022: displacement of American/Asian genotype. *Front Microbiol.* 2025; 16:1558761. . Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1558761>
58. Tuan LV, Thi Tuyet Van N, Hoang Quan N, Tho Duoc PJRdBT. Phylogeny of Dengue virus type 2 isolated in the Central Highlands, Vietnam. *Rev. biol. Trop.* 2017;65(2):819-26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v65i2.23535>.
59. Williams M, Mayer SV, Johnson WL, Chen R, Volkova E, Vilcarromero S, et al. Lineage II of Southeast Asian/American DENV-2 is associated with a severe dengue outbreak in the Peruvian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;91(3):611-620. Disponible en : <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0600>
60. Islam A, Deeba F, Tarai B, Gupta E, Naqvi IH, Abdullah M, et al. Global and local evolutionary dynamics of Dengue virus serotypes 1, 3, and 4. *Epidemiol Infect.* 2023;151:e127. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0950268823000924>
61. Monteil V, Maquart M, Caro V, Jaffar-Bandjee M, Dosso M, Akoua-Koffi C, et al. Circulation of dengue virus type 3 genotype III in Africa since 2008. *Hum Virol Retrovirology.* 2016;42):00128. Disponible en: <https://doi.org/10.15406/jhvr.2016.04.00128>
62. Rahman S, Kumarl S, Ahmed S, Haque N, Anjuman S, Shoaib K, et al. Nationwide distribution of dengue virus type 3 (Denv-3) genotype I and emergence of denv-3 genotype III during the 2019 outbreak in Bangladesh. *Trop Med Infect Dis.* 2021;6(2):58. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6020058>

63. Díaz FJ. Epidemiología molecular del dengue en las Américas. 2004; 17(3-5):281-2. Disponible en: <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.4082>
64. Rahim R, Hasan A, Phadungsombat J, Hasan N, Ara N, Biswas SM, et al. Genetic analysis of dengue virus in severe and non-severe cases in Dhaka, Bangladesh, in 2018–2022. *Viruses*. 2023;15(5):1144. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v15051144>
65. Silva AM da. Caracterização Molecular dos vírus Dengue circulantes em Pernambuco: implicações epidemiológicas[Tesis de Doctorado; Internet]. Brasil: Fundação Oswaldo Cruz; 2013[citado 16 mrz 2025]. Disponible en: <https://semopenalex.org/work/W2241982501?author=https%3A%2F%2Fsemopenalex.org%2Fauthor%2FA5004545298>
66. Villabona-Arenas CJ, de Andrade Zanotto PMJI, Genetics, Evolution. Evolutionary history of Dengue virus type 4: insights into genotype phylodynamics. *Infect Genet Evol*. 2011;11(5):878-85. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.02.007>
67. Cabezas C, Fiestas V, García-Mendoza M, Palomino M, Mamani E, Donaires F. Dengue en el Perú: a un cuarto de siglo de su reemergencia. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*[Internet]. 2015[citado 16 mrz 2025];32(1):146-56. Disponible en: <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=36338592021>
68. Peeling R, Artsob H, Pelegrino JL, Buchy P, Cardoso MJ, Devi S, et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(Suppl 12):S30-S7. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2459>
69. Frazer JL, Norton R. Dengue: A review of laboratory diagnostics in the vaccine age. *J Med Microbiol*. 2024;73(5):001833. Disponible en: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001833>

70. Muller DA, Depelsenaire AC, Young PR. Clinical and laboratory diagnosis of dengue virus infection. J Infect Dis. 2017;215(Suppl 2):S89-95. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw649>
71. Hui B, Ting H, Peng Ch, Shin N, Yee Ch, Heng Ch. Dengue virus infection— a review of pathogenesis, vaccines, diagnosis and therapy. Virus Res. 2023;324:199018. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.199018>
72. Nunes PC, Lima MR, Dos Santos FB. Molecular diagnosis of dengue. En: Mohana-Borges R, editor. Dengue Virus: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. Londres: Springer; 2021. p. 157-71. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1879-0_11
73. Goncalves A, Peeling RW, Chu MC, Gubler DJ, de Silva AM, Harris E, et al. Innovative and new approaches to laboratory diagnosis of Zika and dengue: a meeting report. J Infect Dis. 2018;217(7):1060-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jix678>
74. Souza T, Thayane Sá-Guimarães, Lima ES, Guimarães-Ribeiro V, Ferreira MD, Castro-Salles PF de, et al. History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: a review. Parasit Vectors. 2018;11(1):264. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2830-8>
75. 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. 2013;7(7):e2311. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002311>
76. Besoff K, Delorey M, Sun W, Hunsperger EJC, immunology v. Comparison of two commercially available dengue virus (DENV) NS1 capture enzyme-linked immunosorbent assays using a single clinical sample for diagnosis of acute DENV infection. Clin Vaccine Immunol. 2008;15(10):1513-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/CVI.00140-08>

77. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, Flamand MJJocm. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. J clin Microbiol. 2002;40(2):376-81. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.40.02.376-381.2002>
78. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria DA, et al. Evaluation of commercially available diagnostic tests for the detection of dengue virus NS1 antigen and anti-dengue virus IgM antibody. PloS Negl Trop Dis. 2014;8(10):e3171. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003171>
79. Kao C-L, King C-C, Chao D-Y, Wu H-L, Chang GJJ. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. J Microbiol Immunol Infect. 2005;38(1):5-16.
80. Lima MR, Nunes PC, Dos Santos FB. Serological diagnosis of dengue. En: Mohana-Borges R, editor. Dengue Virus: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. Londres: Springer; 2021. p. 173-96. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1879-0_12
81. Cordeiro MT. Laboratory diagnosis for dengue. Rev. Inst. Trop. S. Paulo. 2012;54:10-2. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652012000700005>
82. Frazer JL, Norton R. Dengue: A review of laboratory diagnostics in the vaccine age. Jf Med Microbiol. 2024;73(5):001833. Disponible en: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001833>
83. Kularatne SA, Dalugama C. Dengue infection: Global importance, immunopathology and management. Clin Med (Lond). 2022;22(1):9-13. Disponible en: <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0791>
84. Hasan S, Jamdar SF, Alalowi M, Al Beaiji SMAAJJoisop, dentistry c. Dengue virus: A global human threat: Review of literature J Int Soc Prev

Community Dent. 2016;6(1):1-6. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/2231-0762.175416>

85. Garcia M, Wehbe M, Lévêque N, Bodet CJEEN. Skin innate immune response to flaviviral infection. Eur Cytokine Netw. 2017;28(2):41-51. Disponible en: <https://doi.org/10.1684/ecn.2017.0394>

86. Loo Y-M, Gale MJ. Immune signaling by RIG-I-like receptors. Immunity. 2011;34(5):680-92. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.05.003>

87. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. Nat Rev Immunol. 2004;4(7):499-511. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nri1391>

88. Uno N, and Ross TM. Dengue virus and the host innate immune response. Emerg Microbes Infect. 2018;7(1):1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0168-0>

89. Sun P, Kochel T. The battle between infection and host immune responses of dengue virus and its implication in dengue disease pathogenesis. ScientificWorldJournal. 2013;2013(1):843469. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2013/843469>

90. Sadler A, Williams BR. Interferon-inducible antiviral effectors. Nat Rev Immunol. 2008;8(7):559-68. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nri2314>

91. Fernandes-Santos C, Azeredo EL. Innate immune response to dengue virus: Toll-like receptors and antiviral response. Viruses. 2022;14(5):992. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/v14050992>

92. Fujita T, Matsushita M, Endo Y. The lectin-complement pathway—its role in innate immunity and evolution. Nat Rev Immunol. 2004;4(1):185-202. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nri1391>

93. Ye J, Zhu B, Fu ZF, Chen H, Cao S. Immune evasion strategies of flaviviruses. *Vaccine*. 2013;31(3):461-471. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.11.015>
94. Chiappelli F, Santos SM, Caldeira Brant XM, Bakhordarian A, Thames AD, Maida CA, et al. Viral immune evasion in dengue: toward evidence-based revisions of clinical practice guidelines. *Bioinformation*. 2014;10(12):726-733. <https://doi.org/10.6026/97320630010726>
95. Bhatt P, Sabeena SP, Varma M, Arunkumar G. Current understanding of the pathogenesis of dengue virus infection. *Curr Microbiol*. 2021;78(1):17-32. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02284-w>
96. Lee MF, Voon GZ, Lim HX, Chua ML, Poh CL. Innate and adaptive immune evasion by dengue virus. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:1004608. Disponível em: <https://doi.org/10.36389/fcimb.2022.1004608>
97. St John AL, Rathore APS. Adaptive immune responses to primary and secondary dengue virus infections. *Nat Rev Immunol*. 2019 Apr;19(4):218-230. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0123-x>
98. World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: World Health Organization; 2009. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547871>
99. Yacoub S, Lam PK, Mai Vu, Le TL, Ha NT, Toan TT, et al. Association of microvascular function and endothelial biomarkers with clinical outcome in dengue: an observational study. *J Infect Dis*. 2016;214(5):697-706. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw220>
100. Alves LCG, Mendonça GCS, de Castro JIB, de Rezende MJP, Fragoso AC. DENGUE: UMA VISÃO GERAL DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E DIAGNÓSTICO EM 2024. *REV Contemporanea*. 2024;4(11):e6669-e. Disponível em: <https://doi.org/10.56083/RCV4N11-135>

101. Castro TIV, Cedeño NV, Flores VMD, Hernández MGC, Cedeño MJP, Mojica AAD, et al. Nueva clasificación clínica de la infección por virus Dengue: ¿qué tan útil es en áreas endémicas? Dom Cien. 2019;5(3):3-26. Disponible en: <https://doi.org/10.23857/dc.v5i3.921>
102. Hadinegoro SR. The revised WHO dengue case classification: does the system need to be modified? Paediatr Int Child Health. 2012;32(1):33-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1179/2046904712z.00000000052>
103. Htun TP, Xiong Z, Pang J. Clinical signs and symptoms associated with WHO severe dengue classification: a systematic review and meta-analysis. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):1116-28. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1935327>
104. Silverio C. Dengue: actualidades, características clínicas epidemiológicas y prevención. Rev Cint GESTAR.2023;6(11 Ed. esp.):2-17. Disponible en: <https://journalgestar.org/index.php/gestar/article/view/80>
105. Kittigul L, Pitakarnjanakul P, Sujirarat D, Siripanichgon K. The differences of clinical manifestations and laboratory findings in children and adults with dengue virus infection. J Clin Virol.2007;39(2):76-81. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.04.006>Get rights and content
106. Ramos MM, Tomashek KM, Arguello DF, Luxemburger C, Quiñones L, Lang J. Early clinical features of dengue infection in Puerto Rico. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009;103(9):878-884. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.11.009>
107. Guzmán Tirado MG. Cuadro clínico del dengue en niños En: Guzmán M, Álvarez Valdés Á, Alfonso Berrio L, Álvarez Vera M, Baly Gil A, Betancourt Ferre D, et al. Dengue. La Habana: ECIMED; 2016.p:217-226

108. Martínez E. Dengue. En: González Saldaña N, Torales Torales AN, Gómez Barreto D, et al. *Infectología clínica pediátrica*. Mexico D.F. McGraw-Hill Interamericana. 1997. p:589-595.
109. Trung DT, Thao le TT, Dung NM, Ngoc TV, Hien TT, Chau NV, Wolbers M, Tam DT, Farrar J, Simmons C, Wills BI. Clinical features of dengue in a large Vietnamese cohort: intrinsically lower platelet counts and greater risk for bleeding in adults than children. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(6):e1679. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001679>
110. Bjorklund A, Resch J, Slusher T. Pediatric Shock Review. *Pediatr Rev*. 2023 Oct 1;44(10):551-565. Disponible en: <https://doi.org/10.1542/pir.2022-005630>
111. Halstead SB, Dans LF. Dengue infection and advances in dengue vaccines for children. *Lancet Child Adolesc Health*. 2019;3(10):734-41. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(19\)30205-6](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(19)30205-6)
112. Cruz m. Principios básicos y perspectiva en pediatría. En Cruz Hernández M, Clemente Pollán J, Palomeque Rico A. *Tratado de pediatría*. 11.^a ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2014. p. 5-16.
113. Matlani M, Chakravarti A, Rawal A, Kashyap B, Gurtoo A. Dengue encephalitis: an entity now common in dengue-prone regions. *Trop Doct* 2009;39(2):115-116. Disponible en: <https://doi.org/10.1258/td.2008.080257>
114. Salgado DM, Eltit JM, Mansfield K, Panqueba C, Castro D, Vega MR, et al. Heart and skeletal muscle are targets of dengue virus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(3):238-42. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181bc3c5b>
115. Lima EQ, Nogueira ML. Viral hemorrhagic fever-induced acute kidney injury. *Semin Nephrol*. 2008; 28(4):409-415 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2008.04.009>

116. World Health Organization. Dengue guias para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control[Internet]. Ginebra: OMS; 2009[citado 16 julio 2025]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/dengue-guias-para-diagnostico-tratamiento-prevencion-control-2009>
117. Vázquez S, Bravo JR, Guzmán MG. ELISA de Inhibición: su utilidad para clasificar un caso de dengue. Rev Cubana Med Trop [Internet] Tropical. 1997 [citado 20 diciembre 2025];49(2):108-12. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07601997000200007&lng=es.
118. Centers for Disease Control and Prevention. CDC DENV-1-4 Real-Time RT-PCR Assay for detection and serotype identification of dengue virus: package insert. Atlanta (GA): CDC; 2023. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/resources/rt-pcr/cdcpackageinsertinternational.pdf>
119. Valdivia I, Palenzuela, A., Herrera, R., Zulueta, O., Feal, S., Ventura, J., Silva, c., Carlos, N., UMELISA DENGUE IgM: una nueva herramienta para el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica insert La Habana: Centro de Inmunoensayo 2006;. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/262758602_Aspectos_de_importancia_clinica_del_dengue_en_la_comunidad_de_San_Mateo_Anzoategui_Venezuela_2005-2008/fulltext/5981e876aca2728abee88fc2/Aspectos-de-importancia-clinica-del-dengue-en-la-comunidad-de-San-Mateo-Anzoategui-Venezuela-2005-2008.pdf
120. Harris E, Videia E, Sandoval E, Cuadra R, Rocha J, Idiaquez W, et al. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. Am J Trop Med Hyg. 2000;63(1):5-11. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2000.63.5>
121. Ramabhatta S, Palaniappan S, Hanumantharayappa N, Begum SV. The clinical and serological profile of pediatric dengue. Indian J Pediatr 2017;84(12):897-901. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2423-0>

122. Selvan T, Nagaraj M, Saravanan P, Somashekhar S. A study of clinical profile of dengue fever in children. *Int J Contemp Pediatr*. 2017;4(2):534. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20170704>
123. Santoso MS, Nara MB, Nugroho DK, Yohan B, Purnama A, Boro AM, et al. Investigation of severe dengue outbreak in Maumere, East Nusa Tenggara, Indonesia: Clinical, serological, and virological features. *PLoS One*. 2025;20(2):e0317854. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0317854>
124. Cotto JJ. Caracterización clínica del dengue con signos de alarma y grave, en hospitales de Guayaquil. *INSPIPILIP*. 2017; 1(1):1-18. Disponible en: <https://doi.org/10.31790/inspilip.v1i1.18>
125. Rolando RP, Yoánder PD, Yasnier DR, David AA. Estudio de una serie de casos pediátricos hospitalizados para vigilancia de dengue. *Jorcienciapdcl*[Internet]. 2023 [citado 16 diciembre 2025]. Disponible en: <https://jorcienciapdcl.sld.cu/index.php/jorcienciapdcl23/2023/paper/view/321/0>
126. Díaz DMJo. A Study on the Clinical and Laboratory Profile of Pediatric Patients with Dengue in a Havana Hospital, Cuba. *J Integr Pediatr Healthc*. [Internet]. 2017 [citado 16 diciembre 2025];1(1):004. Disponible en: <https://scionline.org/open-access/a-study-on-the-clinical-and-laboratory-profile-of-pediatric-patients-with-dengue-in-a-havana-hospital-cuba.pdf>
127. Pantoja O, González D, Guzmán MG, Castro O, Martínez E. Descripción clínica de niños fallecidos por dengue hemorrágico durante la epidemia cubana de 1981. *Rev Cubana Pediatr* [Internet]. 2022 [citado 13 diciembre 2025];94(2):1-19. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312022000200008&lng=es
128. Consuegra A, Martínez E, Castro M. Comportamiento clínico y de laboratorio del choque por dengue en pacientes pediátricos. *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 2021 [citado 13 diciembre 2025]; 73(1). Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602021000100003&lng=es

129. Mariño E, Amaro I, Estupiñán M, Guillot MR, Díaz AJ, González M E. Comportamiento de ingresos por dengue en el Servicio de Pediatría. Cárdenas, 2019. Rev.Med.Electrón. [Internet]. 2022 [citado 13 de diciembre de 2025];44(3):523-34. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242022000300523&lng=es

130. Alvaré LA, Dueñas AS, Victores MM, Pastrana DL, Díaz MP, Concepción IG, et al. Infección por dengue en niños. Invest Medicoquir [Internet]. 2021[citado 13 diciembre 2025];13(3). Disponible en:

<https://revcimeq.sld.cu/index.php/img/article/view/731>

131. Arora SK, Nandan D, Sharma A, Benerjee P, Singh DP. Predictors of severe dengue amongst children as per the revised WHO classification. J Vector Borne Dis. 2021;58(4):329-34. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0972-9062.318312>

132. Flórez JES, Velasquez KM, Cardona ÁMS, Jaramillo BNR, Díaz YEO, Cardona LSG, et al. Clinical manifestations of dengue in children and adults in a hyperendemic region of Colombia. Am J Trop Med Hyg. 2024;110(5):971-978. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.23-0717>

133. Hegazi MA, Bakarman MA, Alahmadi TS, Butt NS, Alqahtani AM, Aljedaani BS, et al. Risk factors and predictors of severe dengue in Saudi population in Jeddah, Western Saudi Arabia: a retrospective study. Am J Trop Med Hyg. 2020;102(3):613-621. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0650>

134. Suárez-Ognio L, Arrasco J, Casapía M, Sihuincha M, Ávila J, Soto G, et al. Factores asociados a dengue grave durante la epidemia de dengue en la ciudad de Iquitos, 2010-2011. Rev. Peru. Epidemiol [Internet]. 2011[citado 13 diciembre

2025];15(1):2.

Disponible

en:

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=203119644003>

135. Mehta TK, Shah PD. Identification of prevalent dengue serotypes by reverse transcriptase polymerase chain reaction and correlation with severity of dengue as per the recent World Health Organization classification (2009). Indian J Med Microbiol. 2018;36(2):273-8. Disponible

en:

https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_17_427

136. Naveca FG, Santiago GA, Maito RM, Meneses CAR, do Nascimento VA, de Souza VC, et al. Reemergence of dengue virus serotype 3, Brazil, 2023. Emerg Infect Dis. 2023;29(7):1482. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid2907.230595>

137. Cerpas C, Vásquez G, Moreira H, Juarez JG, Coloma J, Harris E, et al. Introduction of new dengue virus lineages of multiple serotypes after COVID-19 pandemic, Nicaragua, 2022. Emerg Infect Dis. 2024;30(6):1203. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid3006.231553>

138. Abera A, Tegally H, Tasew G, Wilkinson E, Ali A, Regasa F, et al. Genomic Characterization of Circulating Dengue Virus, Ethiopia, 2022–2023. Emerg Infect Dis. 2025;31(3):516. Disponible en: <https://doi.org/10.3201/eid3103.240996>

139. Neto Z, Martinez PA, Hill SC, Jandondo D, Thézé J, Mirandela M, et al. Molecular and genomic investigation of an urban outbreak of dengue virus serotype 2 in Angola, 2017–2019. PLoS Negl Trop Dis. 2022;16(5):e0010255. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010255>

140. Ariyaratne D, Senadheera B, Kuruppu H, Pramanayagam Jayadas TT, Gomes L, Ranasinghe D, et al. Simultaneous Cocirculation of 2 Genotypes of Dengue Virus Serotype 3 Causing a Large Outbreak in Sri Lanka in 2023. J Infect Dis. 2025;231(4):1041-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae474>

141. Organización Panamericana de la Salud. Epidemiological Alert Risk of dengue outbreaks due to increased circulation of DENV-3 in the Americas

Region[Internet]. Washington, D.C: OPS; 2025 [citado 14 diciembre 2025 7]. Disponible en: <https://www.paho.org/sites/default/files/2025-02/2025-feb-7-phe-epi-alert-dengue-final.pdf>

142. Ocazonez RE, Gómez SY, M Cortés F. Dengue hemorrhagic fever serotype and infection pattern in a Colombian endemic area Rev Salud Publica (Bogota). 2007;9(2):262-74. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s0124-00642007000200010>

143. Jiménez HJ, Galeano F, Adorno C, Lovera D, Delgadillo L, Amarilla S, et al. Factores predictivos de mortalidad en niños con dengue severo hospitalizados en unidades de cuidados intensivos. Pediatr (Asunción). 2025;52(2):86-98. Disponible en: <https://doi.org/10.31698/ped.52022025005>

144. Bandaru AK, Vanumu CS. Early predictors to differentiate primary from secondary dengue infection in children. Med. J. Dr. D Y Patil Univ 2016;9(5):587-93 Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0975-2870.192149>

145. Tatura SN, Denis D, Santoso MS, Hayati RF, Kepel BJ, Yohan B, et al. Outbreak of severe dengue associated with DENV-3 in the city of Manado, North Sulawesi, Indonesia. Int J Infect Dis. 2021;106:185-196. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.03.065>

146. Wardhani P, Aryati A, Yohan B, Trimarsanto H, Setianingsih TY, Puspitasari D, et al. Clinical and virological characteristics of dengue in Surabaya, Indonesia. PLoS One. 2017;12(6):e0178443. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178443>

147. Sule WF, Fadamitan TO, Lawal OA, Adebimpe WO, Opaleye OO, Oluwayelu DO. Probable primary and secondary dengue viral infections and associated host factors among university undergraduates in Osun State, Nigeria. Alexandria Journal of Medicine. 2019;55(1):25-30. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/20905068.2019.1592935>

148. 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. Rev Cubana Med Trop[Internet]. 2019[citado 20 diciembre 2025];71(1):1-31. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602019000100008&lng=es
149. Soo K-M, Khalid B, Ching S-M, Chee H-YJ. Meta-analysis of dengue severity during infection by different dengue virus serotypes in primary and secondary infections. PLoS One 2016;11(5):e0154760. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154760>
150. Puschnik A, Lau L, Cromwell EA, Balmaseda A, Zompi S, Harris E. Correlation between Dengue-Specific Neutralizing Antibodies and Serum Avidity in Primary and Secondary Dengue Virus 3 Natural Infections in Humans. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(6):e2274. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002274>
151. Narvaez F, Montenegro C, Juarez JG, Zambrana JV, Gonzalez K, Videz E, et al. Dengue severity by serotype and immune status in 19 years of pediatric clinical studies in Nicaragua. LoS Negl Trop Dis. 2025;19(1):e0012811. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012811>
152. Katzelnick LC, Gresh L, Halloran ME, Mercado JC, Kuan G, Gordon A, et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans. Science. 2017;358(6365):929-32. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/science.aan6836>
153. Prayitno A, Taurel A-F, Nealon J, Satari HI, Karyanti MR, Sekartini R, et al. Dengue seroprevalence and force of primary infection in a representative population of urban dwelling Indonesian children. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(6):e0005621. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005621>
154. Thai KTD, Nishiura H, Hoang PL, Tran NTT, Phan GT, Le HQ, et al. Age-Specificity of Clinical Dengue during Primary and Secondary Infections. PLoS Negl

Trop Dis. 2011;5(6):e1180. *Referencias Bibliográficas*
 Disponible en:
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001180>

155. Annan E, Treviño J, Zhao B, Rodriguez-Morales AJ, Haque U. Direct and indirect effects of age on dengue severity: The mediating role of secondary infection. PLoS Negl Trop Dis. 2023;17(8):e0011537. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011537>

156. Kyaw AK, Ngwe Tun MM, Moi ML, Nabeshima T, Soe KT, Thwe SM, et al. Clinical, virological and epidemiological characterization of dengue outbreak in Myanmar, 2015. Epidemiol Infect. 2017;145(9):1886-97. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0950268817000735>

157. Alvarez M, Rodriguez-Roche R, Bernardo L, Vazquez S, Morier L, Gonzalez D, et al. Dengue hemorrhagic fever caused by sequential dengue 1–3 virus infections over a long time interval: Havana epidemic, 2001–2002. Am J Trop Med Hyg. 2006;75(6):1113-1117. Disponible en: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.75.1113>

158. Rodriguez-Roche R, Blanc H, Bordería Antonio V, Díaz G, Henningsson R, Gonzalez D, et al. Increasing Clinical Severity during a Dengue Virus Type 3 Cuban Epidemic: Deep Sequencing of Evolving Viral Populations. J Virol. 2016;90(9):4320-33. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jvi.02647-15>

159. Guzman MG, Alvarez M, Halstead SB. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: an historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. Arch Virol. 2013;158(7):1445-59. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1645-3>

160. Álvarez M, Pavón-Oro A, Vázquez S, Morier L, Álvarez ÁM, Guzmán MG. Secuencias de infección viral asociadas a la fiebre del dengue durante la epidemia de dengue 3 en la ciudad de La Habana, 2001-2002. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2008[citado 29 enero 2025];60(1). Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000100003&lng=es

161. Zambrana JV, Hasund CM, Aogo RA, Bos S, Arguello S, Gonzalez K, et al. Primary exposure to Zika virus increases risk of symptomatic dengue virus infection with serotypes 2, 3, and 4 but not serotype 1. *Sci Transl Med*. 2024 ;16(749):eadn2199. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.adn219>
162. Wikramaratna PS, Simmons CP, Gupta S, Recker M. The Effects of Tertiary and Quaternary Infections on the Epidemiology of Dengue. *PLoS One*. 2010;5(8):e12347. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012347>
163. Aggarwal C, Ahmed H, Sharma P, Reddy ES, Nayak K, Singla M, et al. Severe disease during both primary and secondary dengue virus infections in pediatric populations. *Nat Med*. 2024;30(3):670-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41591-024-02798-x>
164. Singla M, Kar M, Sethi T, Kabra SK, Lodha R, Chandele A, et al. Immune Response to Dengue Virus Infection in Pediatric Patients in New Delhi, India— Association of Viremia, Inflammatory Mediators and Monocytes with Disease Severity. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(3):e0004497. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004497>
165. Shih HI, Wang YC, Wang YP, Chi CY, Chien YW. Risk of severe dengue during secondary infection: A population-based cohort study in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2024;57(5):730-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2024.07.004>
166. Carrasco LR, Leo YS, Cook AR, Lee VJ, Thein TL, Go CJ, et al. Predictive Tools for Severe Dengue Conforming to World Health Organization 2009 Criteria. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(7):e2972. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002972>

167. Narvaez F, Gutierrez G, Pérez MA, Elizondo D, Nuñez A, Balmaseda A, et al. Evaluation of the Traditional and Revised WHO Classifications of Dengue Disease Severity. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5(11):e1397. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001397>
168. Phadungsombat J, Vu HTT, Nguyen QT, Nguyen HTV, Nguyen HTN, Dang BT, et al. Molecular Characterization of Dengue Virus Strains from the 2019–2020 Epidemic in Hanoi, Vietnam. Microorganisms. 2023;11(5):1267. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051267>
169. Jayathilaka D, Gomes L, Jeewandara C, Jayarathna GSB, Herath D, Perera PA, et al. Role of NS1 antibodies in the pathogenesis of acute secondary dengue infection. Nat Commun. 2018;9(1):5242. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07667-z>
170. Trang NTH, Long NP, Hue TTM, Hung LP, Trung TD, Dinh DN, et al. Association between nutritional status and dengue infection: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2016;16(1):172. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1498-y>
171. Baiduri S, Husada D, Puspitasari D, Kartina L, Basuki PS. Prognostic factors of severe dengue infections in children. IJTID. 2020;8:44-53. Disponible en: <https://doi.org/10.20473/ijtid.v8i1.10721>
172. Karyanti MR, Uiterwaal CSPM, Hadinegoro SR, Widyahening IS, Saldi SRF, Heesterbeek JAPH, et al. The Value of Warning Signs From the WHO 2009 Dengue Classification in Detecting Severe Dengue in Children. Pediatr Infect Dis J. 2024;43(7). Disponible en: <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000004326>
173. Ahmmed MFIM, Omi NT, Khan EA, Jahan S, Shipu JAH, Islam MR, et al. Factors Influencing Clinical Manifestations as Predictors of Dengue Severity: A Patient-Based Study. J. Biosci. Public Health. 2025;1(1):55-70. Disponible en: <https://doi/10.5455/JBPH.2025.05>

174. Byrne AB, Gutierrez GF, Bruno A, Córdoba MT, Bono MM, Polack FP, et al. Age-associated differences in clinical manifestations and laboratory parameters during a dengue virus type 4 outbreak in Argentina. J Med Virol. 2018;90(2):197-203. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jmv.24952>
175. Yulianto A, Laksono IS, Juffrie M. Faktor prognosis derajat keparahan infeksi dengue. Sari Pediatri. 2016;18(3):198-203. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.14238/sp18.3.2016.198-203>
176. Pavlicich V. Dengue: revisión y experiencia en pediatría. Arch. Pediatr. Urug. [Internet]. 2016 Jun [citado 11 Enero 2026];87(2): 143-156. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-12492016000200011&lng=es
177. Kurniawan A, Rahmat R, Kartapraja RD. Dengue fever with warning sign (case report). JIRK. 2023;2(11):4315-24. Disponible en: <https://doi.org/10.53625/jirk.v2i11.5476>
178. Rahat F, Khanam M, Iman K, Ghosh U, Ghosh N. Importance of platelet count and hematocrit in dengue fever in children. Bangladesh J Child Health. 2020;44(2):74-7. Disponible en: <https://doi.org/10.3329/bjch.v44i2.51129>
179. Gomes RR. Expanded Dengue Syndrome Presenting as Acute Pancreatitis. Global J Infect Dis Immune Ther[Internet].2021[citado 11 Enero 2026];3(1):114. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Richmond-Gomes/publication/353635946_Expanded_Dengue_Syndrome_Presenting_As_Acute_Pancreatitis/links/61078e5c1e95fe241aa1804d/Expanded-Dengue-Syndrome-Presenting-As-Acute-Pancreatitis.pdf
180. Kazi MA, Ghosh S, Roychowdhury S, Giri PP, Sarkar M. A case study of dual infection of dengue and COVID-19: presenting as multiorgan dysfunction in an infant. J Trop Pediatr. 2021;67(1):fmaa080. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/tropej/fmaa080>

181. Rahman ML, Rashid AM, Debnath M, Islam T. The Scenario of Dengue-like Illness in Paediatric Population of Southern Bangladesh. TAJ: J of Teachers Assoc 2021;34(1):86-96. Disponible en: <https://doi.org/10.3329/taj.v34i1.54911>
182. Pereira JS, Slavov SN, Brcko IC, Ribeiro G, de Souza VC, Ribeiro IS, et al. Unravelling dengue serotype 3 transmission in Brazil: evidence for multiple introductions of the 3III_B.3.2 lineage. Virus Evol. 2025;11(1):veaf034. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ve/veaf034>
183. Mancera FMC, Gómez SY, Jiménez R. Subtipos de virus dengue serotipos 2, 3 y 4 aislados en el Departamento de Santander, Colombia. Rev Cubana MedTrop. [Internet]. 2007[citado 11 enero 2026];59(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602007000300002&lng=es
184. Cheng YL, Chao CH, Lai YC, Hsieh KH, Wang JR, Wan SW, et al. Antibodies against the SARS-CoV-2 S1-RBD cross-react with dengue virus and hinder dengue pathogenesis. Front Immunol. 2022;13:941923. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.941923>
185. Rana MS, Usman M, Alam MM, Ikram A, Salman M, Umair M. Impact of previous SARS-CoV-2 infection on the rate of mortality in dengue. A preliminary report from Pakistan. J Infect. 2022;84(5):722-46. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.01.027>
186. Balasubramani S, Govindaraj V, Agarwal R, Pathania A, Vij A. COVID-19 Antibodies as Predictor of Severe Dengue among Hospitalized Children with Dengue Illness in the Post-third-wave Period of COVID-19 Infection in India. J Assoc Physicians India. 2022;70(9):11-2. Disponible en: <https://doi.org/10.5005/japi-11001-0092>
187. Carras M, Maillard O, Cousty J, Gérardin P, Boukerrou M, Raffray L, et al. Associated risk factors of severe dengue in Reunion Island: A prospective cohort

study. PLoS Negl Trop Dis. 2023;17(4):e0011260. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011260>

188. Sierra B, Kouri G, Guzmán M. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. Arch Virol. 2007;152(3):533-42. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0869-x>

189. Restrepo BN, Ramírez R, Agudelo-Florez P, Avendaño E, Chacón JC, Rojas W, et al. Características clínicas y niveles de citocinas en pacientes con dengue y su relación con la raza. Rev Biomed[Internet]. 2010[citado 11 enero 2026];21(3):137-47. Disponible en: <https://hdl.handle.net/10495/29237>

Anexos

Anexo 1

Título del estudio: *Caracterización clínico epidemiológica y estudio de marcadores virales e inmunológicos en niños con Dengue con signos de alarma y Dengue grave en el Hospital Pediátrico del Cerro, 2022.*

Responsable del Estudio: Dra. Araíz Consuegra Otero

Institución: Hospital Pediátrico Docente del Cerro La Habana.

En desarrollo un estudio en La Habana para Caracterizar clínica y epidemiológicamente los casos de dengue, dengue con signos de alarma y casos graves diagnosticados entre agosto a octubre de 2022 en el Hospital Pediátrico Docente del Cerro y examinar variables virológicas, de respuesta inmune y genéticas en estos enfermos.

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: Invitamos a que su hijo(a) participe en un estudio de investigación llamada “*Caracterización clínico epidemiológica y estudio de marcadores virales e inmunológicos en niños con Dengue con signos de alarma y Dengue grave en el Hospital Pediátrico del Cerro, 2022.*” Antes de decidir si su hijo(a) sea parte de este estudio, es importante que usted entienda la información de este documento, porque explica sus derechos y los de su hijo(a), así nuestras responsabilidades para con ustedes. 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 Araíz Consuegra Otero o a cualquier miembro del equipo.

Objetivos y descripción de la investigación: Durante el período pandémico de COVID-19 (2019-2021) la transmisión de dengue en el país fue inferior a los años anteriores, y sólo se detectó circulación de virus dengue de los serotipos 1 y 2. Sin embargo, a partir de mayo del 2022, se observa un incremento en la transmisión de dengue en el país con la circulación de los 4 serotipos de dengue lo que ha conllevado a un incremento en los casos sospechosos y confirmados. Se ha observado, además, un incremento de niños y adultos con signos de alarma y casos graves, por encima de lo observado en años precedentes. Dado este serio contexto epidemiológico en la provincia de La Habana, este proyecto se enmarca en caracterizar clínica y epidemiológicamente un grupo de pacientes

hospitalizados en el Hospital Pediátrico del Cerro en el período de agosto a octubre de 2022 y estudiar varios marcadores virales, inmunológicos y genéticos en los mismos que ayuden a caracterizar y profundizar las causas del elevado número de casos y su gravedad.

Selección de los participantes: Su hijo(a) ha sido seleccionado como participante potencial del estudio, pues ha ingresado con sospecha de dengue en el hospital Pediátrico del Cerro.

Participación voluntaria: La participación en esta investigación es enteramente voluntaria. Es su decisión que su hijo (a) participe o no en el estudio.

Procedimientos: Su hijo(a) recibirá la atención que está protocolizada para los casos con sospecha de dengue, referido a análisis de laboratorio, de imagenología y tratamiento. Esta es una enfermedad que *per se* necesita casi a diario la realización de análisis de sangre, para evaluar la evolución de los enfermos y el tratamiento implica la hidratación intravenosa (conocidos como sueros) análisis de sangre para ver la evolución de parámetros hematológicos y hemoquímicos; estudios imagenológicos y otros). Si acepta que su hijo(a) participe en el estudio, se necesitará que durante el ingreso, en las extracciones de sangre (habituales en el protocolo de manejo de los enfermos de dengue) realizadas el día del ingreso y al 6^{to} día de inicio de los síntomas (se le tome 1mL de más (no necesita un pinchazo adicional, es solo extraer un poco más de sangre). El volumen adicional de las primeras 24 horas de su hospitalización permitirá realizar estudios virales (PCR para identificar la presencia viral) y al 6^{to} día de comienzo de los síntomas para apoyar el diagnóstico de la enfermedad, con la determinación de anticuerpos. También, se prevé que adicionalmente usted y su hijo(a) asistan a dos consultas de seguimiento, una vez que esté de alta hospitalaria (esto si es adicional al protocolo establecido para el manejo de enfermos de dengue). Estas consultas serán: una entre los 15 y 21 días después del alta y otra entre los 4-6 meses y tienen el objetivo de evaluar la convalecencia de la enfermedad en niños. En cada una de estas dos consultas se colectará una muestra de sangre para estudios inmunológicos y genéticos que permitan definir si su hijo(a) ha tenido o no infecciones previas por virus de dengue y la respuesta inmune ante la infección. Se recogerán los datos clínicos previstos en la Historia Clínica individual.

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. Puede resultar una incomodidad la asistencia a las consultas de seguimiento que se prevén en el estudio, pero solo son dos y son muy necesarias para completar los estudios inmunológicos. El estudio no interferirá con la atención que Ud. Y su hijo(a) recibe y el seguimiento por los profesionales de salud de su área.

Beneficios: Ni usted, ni su hijo(a) recibirán incentivos para que su hijo(a) participe. Cada participante conocerá su estatus serológico (o sea si este evento se corresponde con ser la primera vez que se ha infectado con el virus del dengue (dengue primario) o si ha tenido alguna infección anterior (dengue secundario) y de determinarse el virus infectante, el virus dengue que lo infecto.

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 clínico durante el período de la convalecencia. 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 y será responsable de su custodia. 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; los datos identificativos serán codificados.

Derechos de rechazar o abandonar el estudio: La participación en este estudio es voluntaria y Ud. no está obligado a que su hijo(a) participe. Si Ud. prefiere no participar esto no influirá en la atención médica y tratamiento que recibe su hijo(a). Además, ustedes pueden 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 tutor del participante: Yo declaro que he sido informado sobre este estudio 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 que mi hijo(a) participe en este estudio y comprendo que tenemos el derecho de abandonar el estudio cuando lo estimemos conveniente, sin que cause algún perjuicio para mi hijo(a), ni para mí.

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

Nombre y Apellidos del niño(a):

Nombre y apellidos de la ☐ madre, ☐ padre o ☐ tutor:	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.

Nombre y apellidos del Investigador	Firma:	Fecha de firma

Toda pregunta sobre el estudio puede dirigirse al responsable del estudio: Dra. Araiza Consuegra Otero , Calzada del Cerro No. 2002 e/. Santa Teresa y Monasterio, Cerro, La Habana 11300, Cuba, Tel: 52174667

✂-----

Parte para el participante: Yo declaro que he sido informado sobre este estudio 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 que mi hijo(a) participe en este estudio y comprendo que tenemos el derecho de abandonar el estudio cuando lo estimemos conveniente, sin que cause algún perjuicio para mi hijo(a), ni para mí.

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

Nombre y Apellidos del niño(a):	
Nombre y apellidos de la ☐ madre, ☐ padre o ☐ tutor:	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. Confirмо que el individuo ha dado su consentimiento libremente.

Nombre y apellidos del Investigador	Firma:	Fecha de firma