

## **Dengue hemorrágico: Retos para su abordaje clínico**

**Luis Angel Villar, M.D.** - Universidad Industrial de Santander, Colombia

### **1. Introducción.**

La reemergencia en América del dengue -dengue hemorrágico- se ha convertido en un significativo problema de salud pública (1-7), ubicándose a la fecha como la infección por arbovirus de mayor impacto en el mundo (8). Hacia 1970, en América sólo circulaba el serotipo DEN-2, aunque DEN-3 tenía focos en Colombia y Puerto Rico. En los años siguientes, la introducción de nuevos serotipos (DEN-1 en 1977 y DEN-4 en 1981) produjo grandes epidemias en el continente (2). Además, una nueva cepa del serotipo DEN-2 proveniente del sureste de Asia desencadenó nuevas epidemias de grandes proporciones de dengue/dengue Hemorrágico que se iniciaron en Cuba (9) para luego extenderse a otros países como Venezuela, Colombia (10), Brasil, Guyana Francesa, Surinam y Puerto Rico (7, 11, 12), en donde ahora la enfermedad se ha establecido como endémica o endemo-epidémica (8).

Específicamente en Colombia, para 1990 se informaron 35 casos en diversos lugares del país (10). En el área geográfica en donde se realiza el presente estudio, entre noviembre de 1991 y abril de 1992, se informó un primer brote de cerca de 200 casos (13-15). Desde entonces, en este departamento y en todo el país se ha desencadenado una gran epidemia que, en 1998, provocó más de 400.000 casos.

El dengue es una enfermedad de carácter urbano y en Colombia el dengue hemorrágico se concentra principalmente en ciudades con más de cien mil habitantes. De acuerdo con los registros del Minsalud, durante 1998 los municipios con las tasas de incidencia más altas por encima de 100.000 habitantes urbanos fueron: Bucaramanga, Floridablanca, Girón, Barrancabermeja y Piedecuesta en Santander; El Nilo, Guataquí, Girardot, Nariño, La Mesa y Ricaurte en Cundinamarca; e Ibagué en Tolima. También se conoce que en 1998 el 63% de los casos confirmados de dengue hemorrágico se concentró en 15 ciudades que registraron entre 50 y 500 casos con tasas entre 8,5/100.000 habitantes en el Distrito de Cartagena y 135/100.000 habitantes en el municipio de Buga, Valle. Respecto a los grupos etáreos, los más afectados son los adultos jóvenes y los niños, constituyendo los primeros la población económicamente activa.

### **2. El virus del dengue y el espectro clínico de la enfermedad.**

La infección por virus del dengue produce un amplio espectro clínico, que va desde el paciente asintomático hasta aquel que presenta Síndrome de Choque por Dengue (SCD), incluyendo pacientes con dengue clásico (DC) y dengue hemorrágico (DH) (17, 18). A pesar de esta amplia variedad clínica, la fase aguda de la enfermedad (de 4 a 7 días de duración) se inicia con un episodio febril similar para todas, e inclusive indistinguible de la etapa inicial de otras

enfermedades infecciosas febriles agudas (1, 2, 8,19). Por esta razón, en sus etapas iniciales, la infección aguda por dengue puede no ser identificada y el paciente recibir un tratamiento inapropiado o su condición clínica ser subestimada, impidiendo ello una intervención oportuna que prevenga la aparición de complicaciones y formas clínicas severas.

El agente etiológico del dengue es un virus RNA, de la misma familia a la que pertenece el virus de la fiebre amarilla; existen cuatro serotipos de este virus (D1, D2, D3, D4), cada uno de los cuales con la capacidad de provocar infección y/o enfermedad en individuos susceptibles; la infección por un serotipo solo produce inmunidad específica para este, por lo cual existe la probabilidad de sufrir hasta cuatro infecciones diferentes; así, existe evidencia a favor de una mayor severidad de la enfermedad cuando ocurren infecciones secuenciales por distintos serotipos.

La infección por virus del dengue causa diferentes condiciones clínicas que varían entre una forma asintomática, un síndrome febril benigno y la presentación de dengue hemorrágico con su forma severa, el síndrome de choque. La mayoría de los enfermos sufren dengue clásico, una enfermedad febril exantemática autolimitada que cursa con cefalea, dolor retro-ocular y mialgias-artralgias. Algunos pacientes presentan adicionalmente hemorragias espontáneas, disminución de plaquetas y hemoconcentración (aumento del hematocrito, formación de edemas o aparición de derrames serosos) configurando el cuadro de dengue hemorrágico. Los pacientes que padecen esta forma clínica tienen riesgo de complicarse y morir, debido a su tendencia a la hipotensión y el colapso vascular como resultado de un incremento de la permeabilidad de sus vasos y a la subsecuente extravasación de líquidos al espacio intersticial. Frente a ello, las estrategias del equipo de salud son la prevención y manejo adecuado de las complicaciones, la principal medida para reducir la letalidad de la enfermedad.

### **3. El diagnóstico de la infección aguda por virus del dengue.**

La confirmación de la infección por el virus requiere del apoyo del laboratorio. El método diagnóstico específico por excelencia es el aislamiento del virus de la sangre y/o tejidos del enfermo; sin embargo, esta técnica es poco sensible y requiere de la experiencia técnica y laboratorios de referencia; a cambio, métodos indirectos de diagnóstico basados en la detección de anticuerpos en el enfermo como el de inhibición de la hemaglutinación e Inmunoensayo enzimático para inmunoglobulina M por su sensibilidad, relativa facilidad técnica y disponibilidad, son más utilizados. Ambas estrategias son válidas para la confirmación diagnóstica de los casos.

Definida la infección aguda por virus del dengue, son las características clínicas de la enfermedad las que definen si el caso corresponde a un dengue clásico o hemorrágico.

### **4. Barreras para el manejo del dengue.**

La mortalidad por una enfermedad es evitable cuando la población tiene acceso oportuno y/o adecuado a acciones de protección específica, detección temprana, diagnóstico y tratamiento. En el caso del Dengue, la tarea de reducir la tasa de letalidad se ve limitada por barreras del conocimiento y la carencia de instrumentos aplicables a los escenarios de la salud pública, como son:

1. No hay **protección específica** pues se carece de una vacuna efectiva disponible, siendo su búsqueda motivo de intensos trabajos de varios grupos de investigación en el mundo.
2. La **detección y diagnóstico temprano** de la enfermedad aún no es posible pues aunque existen algunos marcadores tempranos de severidad descritos en la literatura, éstos son restringidos a pruebas bioquímicas hepáticas referidas solo en poblaciones pediátricas del Asia, de las que no existen validaciones adecuadas en el medio latinoamericano o nacional; tampoco se han establecido otros marcadores clínicos o de laboratorio reproducibles y de sencilla aplicabilidad. De hecho esta es una de las prioridades en investigación del dengue según lo ha establecido la agencia del TDR (Tropical Diseases Research) de la Organización Mundial de la Salud.
3. No está disponible una **prueba diagnóstica rápida** de campo que permita en forma temprana (antes del quinto día) establecer en forma específica la etiología de una enfermedad febril por dengue. La técnica de Reacción de Polimerasa en Cadena, alternativa al método del aislamiento viral para los primeros días de la enfermedad, resulta aún costosa e imposible de implementar en la mayoría de los países endémicos de dengue.
4. No existe un **tratamiento antiviral específico**, que haya demostrado actuar contra el virus, reducir el tiempo y/o la severidad de la enfermedad e impactar la tasa de letalidad.

Por todo lo anterior, **la estrategia general para disminuir la mortalidad en dengue está basada en el reconocimiento temprano de la enfermedad, la detección de sus manifestaciones más severas y el manejo adecuado de sus complicaciones como son el dengue hemorrágico y el síndrome de choque-dengue.**

El reconocimiento temprano del dengue por parte del equipo de salud que atiende los servicios ambulatorios y de urgencias facilita conocer la dinámica de la enfermedad en las diferentes regiones y municipalidades, permite identificar individuos a riesgo y aumenta la actitud de búsqueda y diagnóstico de casos graves de la enfermedad. De otra parte, la capacidad del equipo de salud para diagnosticar y manejar las formas complicadas del Dengue determinarán en buena parte las tasas de severidad y muerte por una enfermedad en la que el tratamiento específico aún no se encuentra disponible y cuya atención depende de la calidad del soporte y seguimiento ofrecido en los centros de atención.

## **5. Identificación de marcadores tempranos de severidad en dengue: Una alternativa para su abordaje clínico.**

La mayoría de los individuos infectados por dengue que enferman finalmente sufren dengue clásico (DC) (4). Sin embargo, una proporción variable de pacientes evolucionan hacia dengue hemorrágico (DH), cuadro clínico en el que aparecen hemorragias espontáneas, disminución de las plaquetas y trastornos como aumento del hematocrito, formación de edemas o aparición de derrames serosos, que resultan de la extravasación de líquidos e indican hemoconcentración (3). El DH requiere idealmente manejo hospitalario para vigilancia clínica e intervención temprana. Como ya se mencionó, un grupo de los enfermos con DH desarrolla un cuadro clínico aún más severo caracterizado por la aparición de hemorragias mayores, hepatomegalia, dolor abdominal intenso y persistente hipotensión y choque (5). Esta condición clínica, conocida como dengue hemorrágico severo o síndrome de choque por dengue está asociada a una mayor frecuencia de complicaciones y mortalidad (4,5).

Típicamente, los signos de dengue hemorrágico se instalan tardíamente, alrededor del quinto a séptimo día de la enfermedad, con la caída de la fiebre (3). Los pacientes de dengue que evolucionan hacia DH ó DH severo inician su enfermedad como un síndrome febril clínicamente indistinguible de aquellos cuyo curso es benigno (6); Dado el carácter progresivo de la enfermedad, para un manejo oportuno del DH y la disminución de sus complicaciones se requiere contar con marcadores clínicos que permitan discriminar tempranamente a aquellos pacientes que van a evolucionar más severamente que los otros enfermos de dengue (7). Estos marcadores pronósticos tempranos permitirían identificar en los primeros días de enfermedad quienes de los pacientes con dengue que consultan tendrían una evolución más severa (7). No obstante todo lo anterior, a la fecha pocos de los estudios publicados en dengue han hecho énfasis en la detección de estos marcadores (6,9-11).

De otra parte, se conoce de la activación de la respuesta inflamatoria sistémica en varias enfermedades infecciosas, (12-15) incluidas fiebres hemorrágicas virales y su relación con la severidad de las mismas. (16-18) Asimismo, se ha logrado establecer la existencia de alteraciones bioquímicas que acompañan esta actividad inflamatoria, incluyendo la elevación de niveles séricos de proteínas y enzimas de origen intracelular comúnmente detectadas en los laboratorios clínicos de rutina; entre ellas se destacan la proteína C reactiva (PCR), albúmina, transaminasas (AST/ALT), láctico-deshidrogenasa (LDH), creatinfosfoquinasa (CPK), y amilasas. Los niveles séricos de estas moléculas han sido evaluados y encontrados como predictores de severidad en varias enfermedades infecciosas de diferente etiología. (12,14, 19-27).

En el dengue, la evaluación inmunológica de pacientes con distintas formas clínicas del dengue ha mostrado recientemente hallazgos similares a los descritos para otros trastornos infecciosos, indicando un papel importante de la inflamación en la patogénesis de la enfermedad y su correlación con severidad (28-33). Asimismo, existen estudios que describen alteraciones en los

niveles séricos de las enzimas mencionadas ( LDH, CPK, amilasas, AST, ALT), informando en algunos casos diferencias de estos niveles para las distintas formas clínicas del dengue (34-46).

De acuerdo con la información disponible, es biológicamente plausible y existe evidencia inicial que sugiere el papel de estas alteraciones bioquímicas de la respuesta inflamatoria como predictoras de severidad en dengue; sin embargo, esto no ha sido sistemáticamente evaluado. El valor de los niveles séricos de estos mediadores bioquímicos de la respuesta inflamatoria, incluido reactantes de fase aguda (47-48) podría ser un marcador pronóstico de severidad en dengue.

El papel de la respuesta inmune del hospedero en la patogénesis del DH ha sido examinado desde la perspectiva de la magnitud de la respuesta inflamatoria inducida por la infección; así, existe evidencia que indica cómo en el dengue hemorrágico existe una cascada inflamatoria en la que participan moléculas vasoactivas , interleuquinas y otros mediadores de respuesta inflamatoria, incluidos reactantes de fase aguda (Bethell DB, et al. *The Journal of Infectious Diseases* 1998, 177: 778), (por ejemplo: Interleukina 6) (Hober D. *Am J. Trop. Med Hyg.* 1993; 48: 324 Kuno G, *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; 89: 172).

De acuerdo con la información disponible, la activación del sistema inmune y la respuesta inflamatoria subsecuente ocurre en etapas tempranas de la enfermedad, con una mayor intensidad en los pacientes con DH que en los pacientes con DC. (Green, S et al. *The Journal Infectious Diseases* 1999; 180: 1429). Estos hallazgos concuerdan con observaciones preliminares en pacientes con dengue y otras enfermedades febriles hemorrágicas que han establecido la existencia de correlación entre la magnitud de intensidad de la respuesta inmune y la severidad de la enfermedad. (Dengue; Ragupathy, R, et al. *J. Med. Virol* 1998; Ebola: Villinger, F. *Journal Infectious Diseases* 1999; Fiebre Hemorrágica Argentina: Marta, R.F. et al *Am. J. Trop Med*;1999; 60: 85).

Varios de los mediadores bioquímicos de sencilla determinación en los laboratorios de instituciones de atención en salud, (PCR, albúmina, amilasas, CPK, LDH,) son utilizados frecuentemente en la práctica clínica. Como un hecho de interés, éstos se utilizan como marcadores pronósticos para diferentes tipos de enfermedades infecciosas, incluidas fiebres hemorrágicas virales diferentes al dengue. Un ejemplo de ello es el valor pronóstico de severidad de los niveles séricos de la proteína C reactiva (PCR) encontrada en endocarditis bacteriana (Olaison, L. *Archives of Internal Medicine*, 1977), sepsis en UCI (Presterl, E. Et al, *Critical Care Medicine.* 1997), apendicitis aguda (Gronross, JM; *Clinical Chemistry* 1994; 40:1757) y sarampión (Roin, M. *Journal of Tropical Pediatrics* 1992; 38:149). También se ha demostrado el valor predictivo de los niveles séricos de enzimas liberadas por la célula durante el proceso inflamatorio como la láctico-deshidrogenasa (LDH); estudios en histoplasmosis diseminada: (Corcoran G, *The Journal Infectious Diseases*, 1997; 24: 942). Las amilasas han demostrado ser de valor pronóstico en enfermedades febriles hemorrágicas como la fiebre de Lassa (Johnson KM; *Journal of Infectious Diseases* 1987; 155:456). Los niveles séricos más

elevados de esta enzima correspondieron a los pacientes con las formas más severas de enfermedad. En el mismo trabajo la tasa de letalidad fue del 81% en los pacientes con AST superior a 150 UI/L, lo que correlacionó con alta viremia. Así mismo, la creatin fosfoquinasa (CPK), demostró ser también un marcador pronóstico de severidad en fiebre de Lassa. Esta enzima ha sido encontrada de valor diagnóstico y pronóstico en leptospirosis , una enfermedad que hace parte del diagnóstico diferencial del síndrome febril hemorrágico en el trópico (Johnson, WD; et al Serum Creatine phosphokinase in Leptospirosis. JAMA: 1975; 233:981).

Existe evidencia directa e indirecta a favor de alteraciones bioquímicas y/o de los reactantes de fase aguda en dengue: La mayoría de información disponible corresponde a las transaminasas (AST, ALT), cuyos niveles se han encontrado frecuentemente elevados en pacientes con DH (4 referencias). En general, los estudios coinciden en que AST se eleva mas tempranamente y en mayor proporción que ALT; las amilasas séricas también han sido informadas elevadas en DH, pero en la presentación de casos severos, sin que existan series en las que se haya intentado una descripción sistemática del hallazgo. Respecto a LDH, existe información proveniente de experimentos animales y de casos clínicos que indican una elevación de esta enzima en casos de DH. (Setiawan MW. Epigastric pain and sonographic assesment of the pancreas in DHF. J Clin. Ultrasound. 1998; 26: 257).

La CPK ha sido informada elevada en pacientes con dengue a quienes simultáneamente se les encontró alteraciones histopatológicas del músculo. Recientemente se publicó una descripción de alteraciones bioquímicas en DC, y DH (Ray G. Status of antioxidants and other biochemical abnormalities in children with dengue fever. J. Trop. Pediatr. 1999 45: 4-7), en la que se encuentran diferencias estadísticamente significativas para los niveles de albúmina, AST, ALT y CPK entre pacientes con diferentes formas clínicas de dengue.

Los anteriores resultados, aunque en su mayoría hacen parte de estudios descriptivos cuyo objeto primario no es evaluar este aspecto, sugieren que por ser propios de la fase aguda de la inflamación, los mediadores bioquímicos de la respuesta inflamatoria mencionados pueden ser útiles como predictores de severidad en dengue; una clara evidencia al respecto ha sido producida para AST/ALT en población infantil. (Kalayanarooj, S. Early clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illnes. JID: 1987; 176: 313). Sin embargo, el papel de los mediadores bioquímicos de la respuesta inflamatoria fácilmente determinables en los laboratorios de rutina, como marcadores pronósticos de severidad en dengue aún no ha sido un tema sistemáticamente explorado.

La búsqueda de métodos para la predicción de severidad del dengue es una necesidad. Estos deben ser reproducibles y estar disponibles para los equipos de salud; métodos como el ultrasonido, recientemente evaluados (Setiawan, MW. Pediatr Radiol 1998; 28: 1) tienen limitaciones de accesibilidad a dicha tecnología por parte de equipos de salud ubicados en diferentes niveles de complejidad de atención. Es preciso contar con métodos aún más sencillos, que permitan la toma temprana de decisiones por parte del equipo de salud con el fin de detectar

e intervenir tempranamente a aquellos pacientes con mayor chance de presentar formas severas de la enfermedad. Las alteraciones del laboratorio clínico propuestas son técnicas accesibles, que podrían ser además costo-efectivas tal y como se ha demostrado para otras enfermedades regularmente atendidas en los servicios de urgencias. (Srteen, B. Near-Patient Test for Reactive Protein in General Practice: Assessment of Clinical Organizational and Economic Outcomes. *Clinical Chemistry* 1999; 45:478).

### **Bibliografía**

1. Henchal EA, Putnak R. The Dengue Viruses. *Clinical Microbiological Reviews* 1990 ; 3 : 376-96.
2. Gubler D and Clark G. Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever : The Emergence of a Global Health Problem. *Emerging Infectious Diseases* 1995 ; 1(2) : 55-57.
3. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Dengue y Dengue Hemorrhagico en las Americas : Guías para su prevención y control. Washington, D.C. Publicacion Científica 548, p 110. 1995.
4. Guzman MG, Kouri GP, Bravo J, et al. Dengue Hemorrhagic Fever in Cuba, 1981 : A Retrospective Seroepidemiologic Study. *Am J Trop Med Hyg* 1990 ; 42 : 179-84.
5. Ramirez-Ronda C, Garcia CD. Dengue in the Western Hemisphere. *Infectious Diseases Clinics of North America* 1994 ; 8 : 107-29.
6. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S, et al. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. *J Infect Dis* 1997 ; 176 : 313-21.
7. Monath TP. Early Indicators in Acute Dengue Infection. *The Lancet* 1997 ; 350 : 1719-20.
8. OMS
9. Setiawan MW, Samsi TK, Wulur H, et al. Dengue Haemorrhagic Fever : ultrasound as an aid to predict the severity of the disease. *Pediatr Radiol* 1998 Jan ; 28 (1) : 1-4.
10. Bethell DB, Flobbe K, Cao XT, et al. Pathophysiologic and prognostic role of cytokines in dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1998 Mar ; 177 (3) : 778-82.
11. Wang LY, Chang WY, Lu SN, Chen TP. Sequential changes of serum transaminase and abdominal sonography in patients with suspected dengue fever. *Kao Hsiung I Hsueh Tsa Chih* 1990 Sep ; 6(9) :483-9.
12. Olaison L, Hogevik H, Alestig K. Fever, C-Reactive Protein, and Other Acute-Phase Reactants Durin Treatment of Infective Endocarditis. *Arch Intern Med* 1997 ; 157 Apr : 885-92.
13. Grönroos JM, Kuttala K, Nevalainen TJ. Group II phospholipase A<sub>2</sub> in seerum in critically ill surgical patients. *Critical Care Medicine* 1994 ;22(6) : 956-59.
14. Presterl E, Staudinger T, Petterman M, et al. Cytokine profile and correlation to the APACHE III and MPM II scores in patients with sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1997 ; 156(3 Pt 1) : 825-32.
15. Fassbender K, Dempfle CE, Mielke O, Rossol S, et al. Proinflammatory cytokines : indicators of infection in high-risk patients. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1997 ; 130(5) : 535-9.

16. Marta RF, Montero VS, Hack CE, et al. Proinflammatory cytokines and elastase- $\alpha$ -1-antitrypsin in Argentine Hemorrhagic Fever. *J Trop Med Hyg* 1999 ; 60(1) :85-89.
17. Villinger F, Rollin PE, Brar SS, et al. Markedly elevated levels of Interferon (INF)- $\gamma$ , INF- $\alpha$ , Interleukin (IL)-2, IL-10, and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  associated with Fatal Ebola Virus Infection *J Infect Dis* 1999 ; 179 (Suppl 1) : S188-91.
18. Johnson KM, McCormick JB, Webb PA, et al. Clinical virology of Lassa Fever in hospitalized patients. *J Infect Dis* 1987 ; 155 :456-464
19. Küster H, Weiss M, Willeitner A, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *The Lancet* 1998 ; 352 : 1271-77.
20. Nevalainen TJ. Serum phospholipases A<sub>2</sub> in inflammatory diseases. *Clinical Chemistry* 1993 ; 39 : 2453-59.
21. Izumi S, Hughes RD, Langley PG, et al. Extent of the acute phase response in fulminant hepatic failure. *Gut* 1994 ; 35 : 982-86.
22. Pova P, Almeida E, Moreira P, et al. C-Reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Med* 1998 ;24 : 1052-56.
23. Johnson WD, Coelho Silva I, Rocha H. Serum Creatine Phosphokinase in leptospirosis. *JAMA* 1975 ;233(9) : 981-82.
24. McCormick JB, King IJ, Webb PA, et al. A case-control study of the clinical diagnosis and course of Lassa Fever. *J Infect Dis* 1987 ; 155(3) :145-55.
25. Corcoran GR, Al-Abdely H, Flanders CD, et al. Markedly elevated serum lactate dehydrogenase levels are a clue to the diagnosis of disseminated histoplasmosis in patients with AIDS. *Clinical Infectious Diseases* 1997 ; 24 : 942-44.
26. Roine I, Ledermann W, Arrizaga N, et al. C-reactive protein in Measles. *Journal of Tropical Pediatrics* 1992 ;38 :149-52.
27. Grönroos JM, Forsstrom JJ, Irjala K, Nevalainen TJ. Phospholipase A<sub>2</sub>, C-reactive protein, and white blood cell count in the diagnosis of acute appendicitis. *Clinical Chemistry* 1994 ; 40 : 1757-60.
28. Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, et al. Early immune activation in acute dengue illness is related to development of plasma leakage and disease severity. *J Infect Dis* 1999 ; 179 : 755-62.
29. Green S, Pichyangkul S, Vaughn DW, et al. Early CD69 expression on peripheral blood lymphocytes from children with dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 199 ; 180 : 1429-35.
30. Raghupathy R, Chatuvedi UC, Al-Sayer H, et al. Elevated levels of IL-8 in dengue hemorrhagic fever. *J Med Virol* 1998 ; 56(3) : 280-85.
31. Kuno G, Bailey RE. Cytokine response to dengue infection among Puerto Rican patients. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 1994 ; 89(2) : 179-82.
32. Hober D, Poli L, Roblin B, et al. Serum levels of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in dengue infected patients, *Am J Trop Med Hyg* 1993 ; 48(3) : 324-31.
33. Dietz V, Gubler DJ, Ortiz S, Kuno G, et al. The 1986 dengue and dengue hemorrhagic fever epidemic in Puerto Rico : Epidemiologic and clinical observations. *Puerto Rico Health Science Journal* 1996 ; 15(3) :201-10.



34. Nguyen TL, Nguyen TH, Tieu NT. The impact of dengue hemorrhagic fever on liver function. *Res Virol* 1997 ; 148(4) : 273-77.
35. Kuo CH, Tai DI, Chang-Chien CS, et al. Liver biochemical test and dengue fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992 ; 47(2) : 265-70.
36. Alvarez ME, Ramirez-Ronda CH. Dengue and hepatic failure. *Am J Med* 1985 ; 79(5) : 670-74.
37. Setiawan MW, Samsi TK, Wulur H, et al. Epigastric pain and sonographic assessment of the pancreas in dengue hemorrhagic fever. *J Clin Ultrasound* 1998 ; 26(5) : 257-59.
38. Jusuf H, Sudjana P, Djumhana A, et al. Dengue hemorrhagic fever with complication of acute pancreatitis related hyperglycemia : a case report. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1998 ; 29(2) : 367-69.
39. Gascon J, Giner V, Vidal J, et al. Dengue : a re-emerging disease. A clinical and epidemiological study in 57 Spanish travelers. *Med Clin (Barc)* 1998 ; 111(15) : 583-86.
40. Malheiros SM, Oliveira AS, Schmidt B, et al. Dengue. Muscle biopsy findings in 15 patients. *Arq Neuropsiquiatr* 1993 ; 15(2) : 159-64.
41. Krippner R, Hanish G, Kretschmer H. Dengue fever with hemorrhagic manifestations after a stay in Thailand. *Dtsch Med Wochenschr* 1990 ; 115(22) : 858-62.
42. Agrawal DK, Tandon P, Chaturvedi UC, Kumar A. Biochemical study o certain enzymes and metabolites of the carbohydrate metabolism in the skeletal muscle of the dengue virus-infected mice. *J Gen Virol* 1978 ; 40(2) : 399-408.
43. Ray G, Kumar V, Kapoor AK, et al. Status of antioxidants and other biochemical abnormalities in children with dengue fever. *J Trop Pediatr* 1999 ; 45(1) : 4-7.
44. Nevalainen TJ, Losacker W. Serum phospholipase A<sub>2</sub> in dengue. *Journal of Infection* 1997 ; 35(3) : 251-52.
45. Gabay C, Klushner I. Acute-Phase proteins and other systemic responses to inflammation. *NEJM* 1999 ; 340(6) :448-54.
46. Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants : C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today* 1994 ; 15(2) : 81-88.