



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE  
HIDALGO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS**

**“DR. IGNACIO CHÁVEZ”**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**



## **MEMORIA DE TESIS:**

**“Estudio comparativo de biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación en  
pacientes con infección por virus Zika y pacientes con fiebre de inicio agudo”**

Que para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**PRESENTA:**

Químico-farmacobióloga

Ariadna Lorena Mondragón García

**ASESOR DE TESIS:**

Doctora en Ciencias Químico Biológicas

Martha Eva Viveros Sandoval

Morelia, Michoacán México

Agosto 2018

La Maestría en Ciencias de la Salud de la  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
Pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia  
del CONACyT

El estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas  
“Dr. Ignacio Chávez”  
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo  
Recibió beca de CONACyT  
Durante la realización de su tesis de Maestría en Ciencias de la Salud

El presente trabajo de tesis fue financiado mediante el proyecto de investigación “Eficacia protectora y neutralización para seleccionar una vacuna óptima para virus Zika”, financiado por el programa Innovate UK, número de referencia: 972216, amparado por el convenio de colaboración R45704/CN002 entre la universidad de Oxford y la UMSNH.

El Comité Tutorial designado por la División de Estudios de Posgrado de la

Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, aprobó la memoria de tesis que presentó:

Química Farmacobióloga ARIADNA LORENA MONDRAGÓN GARCÍA

Presidente:

Doctora en Ciencias Biológicas

Ana Edith Higareda Mendoza

---

Doctor en Ciencias Químico Biológicas

Sergio Gutiérrez Castellanos

---

Maestra en Salud Pública

Gloria Alicia Figueroa Aguilar

---

Doctora en Ciencias Biológicas

Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas

---

Director de tesis

Doctora en Ciencias Químico-Biológicas

Martha Eva Viveros Sandoval

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

La presente investigación se realizó en:

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas

“Dr. Ignacio Chávez”

División de Estudios de Posgrado

Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular

## **Estudio comparativo de biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación entre pacientes con infección por virus Zika y pacientes con fiebre de inicio agudo.**

### **RESUMEN**

**Introducción:** El Zika, es una viremia que tiene un cuadro clínico inespecífico y que se ha asociado con otras complicaciones como Síndrome de Guillain-Barré y Síndrome Congénito. La respuesta inmune desplegada ante infecciones incluye un estado inflamatorio que se caracteriza por una elevación de citocinas. Por otra parte la fiebre, es un signo relacionado pero no exclusivo de las infecciones que está incluido en la infección Zika. La fiebre es originada por citocinas como IL-1, IL-6, TNF  $\alpha$  e IFN  $\gamma$ . Por otra parte, las plaquetas son células que participan en la respuesta inmune en infecciones bacterianas y virales, y como también son mediadoras de la inflamación. Las plaquetas se activan en infecciones y las lesiones vasculares, liberando biomarcadores de activación como el PF-4, B-TG, CD40Ls y P-selectina, FvW.

**Objetivo:** Determinar si existe activación plaquetaria en la infección por virus Zika a través de la cuantificación de biomarcadores plaquetarios (VPM, PF-4, B-tromboglobulina, CD40Ls, P-selectina) y daño endotelial (FvW)

**Material y Métodos:** Se colectaron muestras sanguíneas de suero y plasma citratado de pacientes con probable infección por Zika, con fiebre de inicio agudo y de sujetos aparentemente sanos como control. A las muestras se realizó el diagnóstico confirmatorio de infección Zika por RT-PCR. Los biomarcadores de activación plaquetaria (PF-4, B-tromboglobulina, CD40Ls, FvW y P-selectina) y de inflamación (IL 10, IL6, TNF  $\alpha$  e IFN  $\gamma$ ) se cuantificaron por medio de la técnica ELISA.

**Resultados:** La definición operacional de caso sospechoso de Zika sólo se cumplió en el 50% de los pacientes positivos. Los pacientes con Zika mostraron ligera neutrofilia e incremento en el VPM. De los Biomarcadores cuantificados en suero y plasma, 4 resultaron con diferencias significativas entre los tres grupos de estudio, el FvW y la IL6 se encontraron elevados en el grupo de Zika ( $p=0.002$ )( $p=0.004$ ) y fiebre ( $p=0.002$ ) ( $p<0.0001$ ) respectivamente en comparación al grupo control. La BTG se elevó en el grupo de Zika ( $p=0.015$ ) respectó al grupo de fiebre y grupo con trol ( $p=0.021$ ). Por último el TNF  $\alpha$  resultó incrementado respecto al grupo de Zika ( $p=0.015$ ) y grupo control ( $p<0.0001$ ).

También se encontraron correlaciones entre los biomarcadores de activación plaquetaria/daño endotelial e inflamatorios: VPM con IFN  $\gamma$  ( $\rho=0.320$ ,  $p<0.0001$ ), IL 6 ( $\rho=0.329$ ,  $p<0.0001$ ), TNF  $\alpha$  ( $\rho=0.330$ ,  $p<0.0001$ ), FvW( $\rho=0.346$ ,  $p<0.0001$ ), e IL10( $\rho= -0.426$ ,  $p<0.0001$ ), así como PF4 e IL10 ( $\rho=0.178$ ,  $p=0.040$ ), Psel e IFN  $\gamma$  ( $\rho=0.203$ ,  $p=0.018$ ) y FvW con IFN  $\gamma$  ( $\rho=0.284$ ,  $p=0.001$ ) FvW con IL6 ( $\rho=0.205$ ,  $p=0.022$ ).

**Conclusiones:** Los pacientes con infección por virus Zika presentan biomarcadores de activación plaquetaria y de daño endotelial elevados que correlacionan con biomarcadores de inflamación lo cual sugiere que las plaquetas están involucradas en la respuesta inmunológica a la infección por virus Zika

**PALABRAS CLAVE** Zika, fiebre, biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación, activación plaquetaria.

## **Comparative study of biomarkers of platelet activation and inflammation among patients with Zika virus infection and patients with acute onset fever.**

### **SUMMARY**

**Introduction:** Zika is a viremia that has a nonspecific clinical picture and that has been associated with other complications such as Guillain-Barré Syndrome and Congenital Syndrome. The immune response displayed before infections includes an inflammatory state that is characterized by an elevation of cytokines. On the other hand, fever is a related but not exclusive sign of the infections that is included in the Zika infection. Fever is caused by cytokines such as IL-1, IL-6, TNF $\alpha$  and IFN  $\gamma$ . On the other hand, platelets are cells that participate in the immune response in bacterial and viral infections, and as they are also mediators of inflammation. Platelets are activated in infections and vascular lesions, releasing activation biomarkers such as PF-4, B-TG, CD40Ls and P-selectin, FvW.

**Objective:** To determine if there is platelet activation in Zika virus infection through the quantification of platelet biomarkers (MPV, PF-4, B-thromboglobulin, CD40Ls, P-selectin) and endothelial damage (VWF)

**Material and Methods:** Blood samples were collected from serum and citrated plasma from patients with probable Zika infection, with acute onset fever and apparently healthy subjects as control. A confirmatory diagnosis of Zika infection was performed on the samples by RT-PCR. The biomarkers of platelet activation (PF-4, B-thromboglobulin, CD40Ls, FvW and P-selectin) and inflammation (IL 10, IL6, TNF  $\alpha$  and IFN  $\gamma$ ) were quantified by means of the ELISA technique.

**Results:** The operational definition of a suspected Zika case was only met in 50% of positive patients. Patients with Zika showed mild neutrophilia and increased MPV. Of the quantified Biomarkers in serum and plasma, 4 resulted with significant differences between the three study groups, the VWF and the IL6 were found elevated in the Zika group ( $p = 0.002$ ) ( $p = 0.004$ ) and fever ( $p = 0.002$ ) ( $p < 0.0001$ ) respectively compared to the control group. BTG was elevated in the Zika group ( $p = 0.015$ ) with respect to the group of fever and troll group ( $p = 0.021$ ). Finally, TNF  $\alpha$  was increased with respect to the Zika group ( $p = 0.015$ ) and control group ( $p < 0.0001$ ).

Correlations were also found between biomarkers of platelet activation / endothelial damage and inflammatory: FPV with IFN  $\gamma$  ( $\rho = 0.320$ ,  $p < 0.0001$ ), IL 6 ( $\rho = 0.329$ ,  $p < 0.0001$ ), TNF  $\alpha$  ( $\rho = 0.330$ ,  $p < 0.0001$ ), FvW ( $\rho = 0.346$ ,  $p < 0.0001$ ), and IL10 ( $\rho = -0.426$ ,  $p < 0.0001$ ), as well as PF4 and IL10 ( $\rho = 0.178$ ,  $p = 0.040$ ), Psel and IFN  $\gamma$  ( $\rho = 0.203$ ,  $p = 0.018$ ) and VWF with IFN  $\gamma$  ( $\rho = 0.284$ ,  $p = 0.001$ ) VWF with IL6 ( $\rho = 0.205$ ,  $p = 0.022$ ).

**Conclusions:** Patients with Zika virus infection have biomarkers of elevated platelet activation and endothelial damage that correlate with inflammation biomarkers, suggesting that platelets are involved in the immune response to Zika virus infection.

**KEY WORDS** Zika, fever, biomarkers of plaque activation and inflammation, platelet activation

## ABREVIATURAS

ADAMTS 13 disintegrina y metaloproteasa con trombospondina tipo 1 motivo no. 13  
ARN. Ácido ribonucleico  
AXL Receptor tirosina quinasa  
BH. Biometría Hemática  
B-TG: Beta-Tromboglobulina  
°C: Grados Celcius.  
CD40Ls. Ligando CD40 soluble  
CD62 P P-selectina  
CHIKV virus del Chikungunya  
DC- SIGN, molécula de adhesión intercelular (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin)  
DEET, N, N-Dietil-meta-toluamida,  
DGE Dirección General de Epidemiología  
DENV Virus del Dengue  
dNTP deoxinucleósido trifosfato  
EDTA-K2 Anticoagulante de ácido etildiaminotetraacético di-potásico  
ELISA ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas  
FVIII Factor de la coagulación VIII  
FvW: Factor von Willebrand  
GP Glicoproteína  
HGZ/MF Hospital General de Zona con Medicina Familiar  
IFN  $\gamma$ : Interferón gamma  
IgG inmunoglobulina G, anticuerpos de memoria  
IgM inmunoglobulina M, de fase aguda.  
IL interleucina  
IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social  
InDRE Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos  
kD. KiloDaltones.  
NAT test de ácidos nucleicos  
Nm nanómetros  
NET neutrophil extracellular trap (red extracelular del neutrófilo)  
PF4: factor plaquetario  
ph unidad de medida de acidez o basicidad en soluciones  
PRNT. Plaque Reduction Neutralization Assay  
RNAm RNA mensajero  
RPM: Revoluciones por minuto  
RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa en tiempo real  
PSGL-1 ligando de glicoproteína P-Selectina 1  
SINAVE: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica  
SGB Síndrome de Guillain-Barré  
SS Secretaría de Salud  
TIM-1 dominio de mucina 1 de la inmunoglobulina de las células T del receptor de la superficie celular  
TNF  $\alpha$ : Factor de Necrosis Tumoral alpha

Tyro, receptor de proteína tirosina quinasa (PTK)

uL microlitros

UMF: Unidad de Medicina Familiar

VHB Virus de la Hepatitis B

VHC Virus de la Hepatitis C

VIH Virus de la Inmunodeficiencia Humana

## Relación de tablas

Tabla 1	Casos confirmados autóctonos de enfermedad por Virus Zika. México 2015-2018	13
Tabla 2	Casos confirmados de Síndrome de Guillain-Barré asociado a Zika en México	14
Tabla 3	Diferencias y similitudes del Dengue Zika y Chikungunya	15
Tabla 4	Características generales de los gránulos plaquetarios	19
Tabla 5	Pirógenos endógenos y exógenos comunes	27
Tabla 6	Definiciones clínicas de caso sospechoso de Zika y fiebre	31
Tabla 7	Características demográficas de los pacientes y manejo de los pacientes	49
Tabla 8	Datos de la Biometría hemática en pacientes con Zika, fiebre y sujetos sanos	50
Tabla 9	Signos y síntomas en pacientes con Zika y fiebre aguda	51
Tabla 10	Signos y síntomas de la pacientes Zika positivos	53
Tabla 11	Biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación	54
Tabla 12	Resumen de correlaciones de biomarcadores	58
Tabla 13	Comparación de diversos estudios de signos y síntomas de Zika	59

## Relación de figuras

Figura 1	Mosquitos transmisores del virus Zika	2
Figura 2	Estructura del virus Zika	3
Figura 3	Descripción de las proteínas del virus Zika	3
Figura 4	Mecanismo de replicación del virus Zika	4
Figura 5	Respuesta Inmune después del arbovirus	5
Figura 6	Brotos del virus Zika 2007-2016.	10
Figura 7	Brasil: infección por virus Zika, 2015-2016 y tasas de microcefalia, 2010-2014 y 2015	11
Figura 8	Casos notificados de virus chikungunya, dengue, zika, y microcefalia en, Brasil. 2015-2016	12
Figura 9	Línea del tiempo del virus Zika	17
Figura 10	Efecto de la activación plaquetaria en las infecciones virales y su nexa con el sistema inmune	24
Figura 11	Patogénesis de la fiebre	28
Figura 12	Respuesta de las células del sistema inmune innato al estrés	30
Figura 13	ELISA tipo sándwich	40
Figura 14	Tipos de ELISA	41
Figura 15	Resultado del total de muestras	49
Figura 16	Signos y síntomas en porcentaje de pacientes con fiebre aguda y Zika	52
Figura 17	Exantema y conjuntivitis de pacientes con sospecha de Zika	54
Figura 18	Biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación	55
Figura 19	Correlaciones de VPM con IFN $\gamma$ , IL6, TNF $\alpha$ , FvW e IL10	56
Figura 20	Correlación de biomarcadores plaquetarios/daño endotelial con biomarcadores inflamatorios	57

## INDICE

<b>VIRUS ZIKA .....</b>	<b>1</b>
Generalidades virus Zika.....	1
Formas de transmisión .....	1
Estructura del virus Zika .....	2
Mecanismo de patogenicidad.....	4
Respuesta inmune a arbovirus.....	5
Manifestaciones clínicas y definición operacional.....	6
Tratamiento, prevención y vacuna .....	8
Origen virus Zika .....	9
Esparcimiento global y complicaciones asociadas.....	10
Virus Zika en Continente Americano y México .....	11
<b>Zika en México .....</b>	<b>12</b>
Algoritmo operacional en México.....	14
Complicaciones Asociadas a Zika en México: Síndrome de Guillain-Barré y Síndrome Congénito Asociado a Zika .....	14
Diagnóstico del virus Zika .....	15
Breve línea de tiempo del virus Zika .....	17
<b>PLAQUETAS .....</b>	<b>18</b>
Introducción .....	18
Activación plaquetaria.....	20
Plaquetas y su nexa con la inflamación.....	21
Plaquetas en infecciones virales.....	22
Fiebre y sistema inmune.....	29
<b>BIOMARCADORES .....</b>	<b>32</b>
Biomarcadores de inflamación.....	32
Interleucina 10.....	32
Factor de Necrosis Tumoral alpha.....	33
Interleucina 6.....	33
Interferón gamma .....	34
Biomarcadores de plaquetarios y de disfunción endotelial .....	35
Factor Von Willebrand.....	35

PF 4 .....	35
P-Selectina.....	36
LCD4Os .....	37
B-Tromboglobulina.....	38
<b>FUNDAMENTO DE TÉCNICAS.....</b>	<b>39</b>
PCR-RT .....	39
ELISA .....	40
<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>42</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>42</b>
<b>OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>42</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>42</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
<b>Criterios de inclusión:</b> .....	<b>44</b>
<b>Tamaño de muestra:</b> .....	<b>44</b>
<b>Definición del grupo control.....</b>	<b>44</b>
<b>Técnicas y procedimientos.....</b>	<b>45</b>
<b>RT-PCR.....</b>	<b>46</b>
ELISAS .....	47
<b>Análisis Estadístico.....</b>	<b>47</b>
<b>Aspectos Bioéticos:</b> .....	<b>48</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>
<b>Discusión .....</b>	<b>58</b>
<b>Conclusión.....</b>	<b>68</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO 1. Carta de consentimiento informado.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO 2. Estudio epidemiológico de caso de enfermedades transmitida por vector .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO 3. Carta de Aprobación de UMSNH .....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO 4. Carta de Aprobación de IMSS.....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXO 5. Carta de aprobación de Secretaría de Salud.....</b>	<b>83</b>
Total de páginas	96



# VIRUS ZIKA

## Generalidades virus Zika

El virus Zika es un arbovirus, esta palabra tiene su origen del acrónimo en inglés ARthropod-BOrne VIRUSes y hace alusión a los virus que son transmitidos por artrópodos. Los arbovirus son genéticamente muy diversos y se dividen en grupos con más de 600 miembros, sin embargo, al menos 80 de ellos son conocidos como patógenos para el humano. Los arbovirus que son clínicamente importantes y que son transmitidos por la picadura de mosquito se encuentran distribuidos en tres familias diferentes (1):

Flaviviridae: que incluye al virus del Dengue, Zika, Fiebre Amarilla, y del Nilo Occidental.  
Togaviridae: que incluye al virus del Chikungunya, bosque Semliki y encefalitis equina Venezolana.

Bunyaviridae: que incluye al virus de La Crosse.

El virus Zika pertenece al Género Flaviviridae, y a la familia de los Flavivirus (2), a esta misma familia pertenecen virus como el dengue, el virus de la fiebre amarilla y el virus de la Hepatitis C. Este virus causa la enfermedad con el mismo nombre: Zika.

Actualmente se conocen dos linajes del virus, el linaje Asiático y el linaje Africano (3) .

Este virus es transmitido principalmente la hembra *Aedes aegyptii* y *albopictus* que están ampliamente distribuidos por el mundo.

## Formas de transmisión

La principal forma de transmisión de la infección de Zika es por la picadura de la hembra (portadora del virus) del mosquito del género *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, la hembra se

infecta al picar a una persona que tiene la viremia y al picar a otra persona, al ser ya portadora, ésta le transmite el virus.



Figura1. Mosquitos transmisores del virus Zika

A la derecha mosquito *Aedes aegypti*, a la izquierda *Aedes albopictus*

Aunque ésta es la principal de transmisión, también se han documentando otras formas de transmisión menos frecuentes como vía materno-fetal (4) y por transmisión sexual (5).

El virus se ha detectado no sólo en sangre sino también en saliva, orina, semen, leche materna y fluidos vaginales (6) y líquido amniótico (7), por lo que otras posibles formas de transmisión están en investigación. El tiempo de detección del virus en las diferentes muestras es muy variado, se tiene evidencia por ejemplo, de muestras que son positivas hasta después de varios meses después de la infección (8).

Otras formas de transmisión por medio de transfusión sanguínea (9) y por transfusión plaquetaria están en estudio (10).

## **Estructura del virus Zika**

Es un virus con cápside de forma icosaédrica que mide de 50 a 60 nanómetros y está compuesto por RNA, monocatenario y es de sentido positivo (dirección 5' a 3'). Su genoma está compuesto de 10.7 kilo bases. El genoma contiene regiones 5' y 3' no traducidas que flanquean un único marco de lectura abierta ORF (open reading frame) (11).

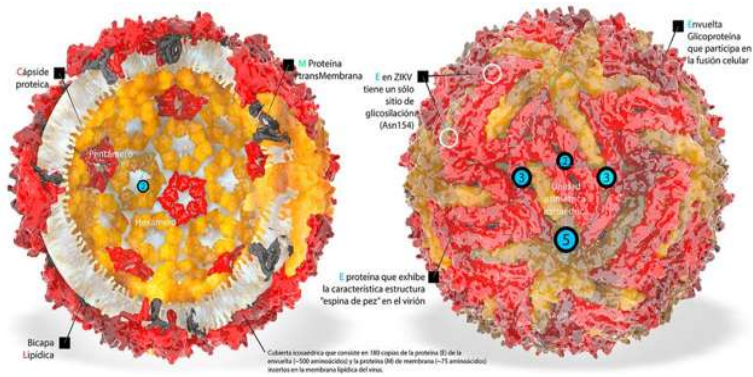


Figura2. Estructura del virus Zika (12)

Su RNA se traduce a una poliproteína única que tiene 3423 aminoácidos de longitud, y codificada para de diez proteínas, tres proteínas estructurales:(C ) Cápside, (prM/M) Pre-membrana y (E) Envoltura; y siete proteínas no estructurales NS (NS1, NS2A, NS2B,NS3, NS4A, NS4B, y NS5) que son necesarias para el ensamblaje y replications de los viriones maduros (13).

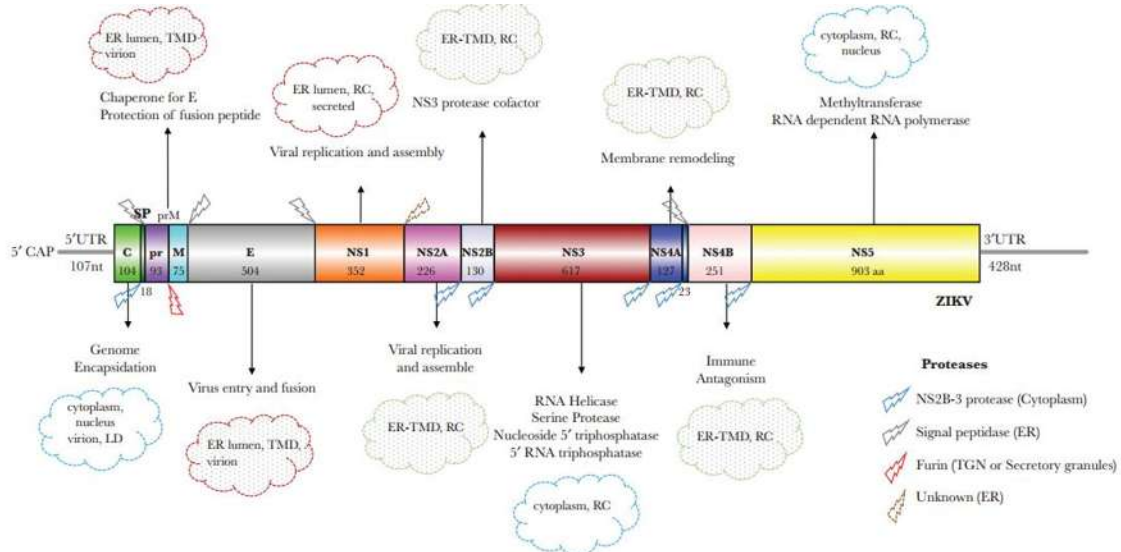


Figura 3. Descripción de las proteínas del virus Zika(13)

Se especula que debido a cambios en el codón NS1 del genoma, el virus se pudo adaptar a los humanos (14).

## Mecanismo de patogenicidad

El mecanismo de patogenicidad así como la respuesta inmune no están del todo dilucidadas, pero se conoce que el mecanismo de infección del virus Zika es por medio de la piel en la mayoría de los casos, cuando se adquiere la infección por la picadura del mosquito, de esta forma infecta a los fibroblastos de la dermis, células dentríticas inmaduras y queratocitos de la epidermis, el virus Zika logra infectar a estas células por medio de la interacción de factores de adhesión como Tyro-3, DC- SIGN, AXL y TIM-1(15).

La combinación de la envoltura viral con el endosoma de la membrana de la célula huésped desencadena un mecanismo de penetración del genoma del virus hacia citoplasma debido al pH ácido dentro de los endosomas celulares. La membrana de la célula huésped produce un entorno idóneo para la replicación viral en el Retículo endoplásmico, después el virión maduro es liberado al citoplasma de las células donde es liberado por medio de exocitosis. Este virión maduro es capaz de infectar a otras células. Después de su replicación en el sitio primario de inoculación, el virus se propaga a través de los ganglios linfáticos donde después es esparcido por el torrente sanguíneo, causando así la viremia (16)

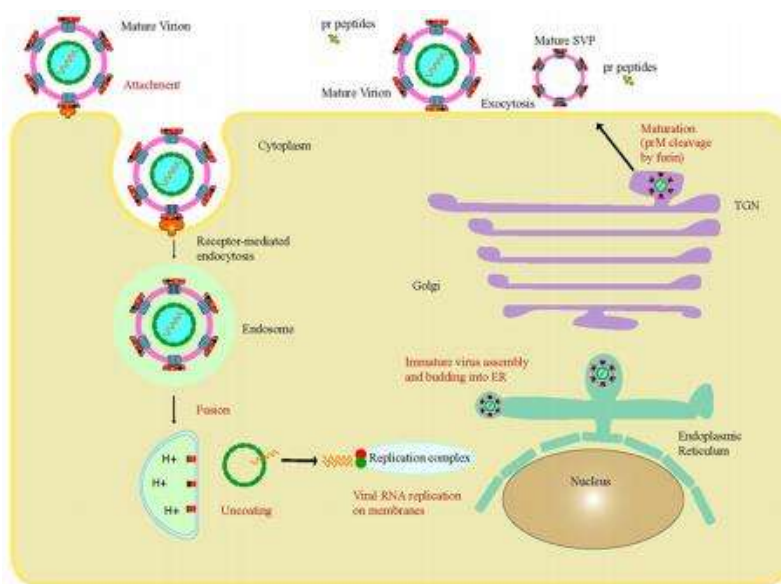


Figura 4: Mecanismo de replicación del virus Zika(16)

## Respuesta inmune a arbovirus

Para entender la respuesta inmune a los arbovirus tiene tres partes fundamentales en la infección: el trauma de picadura del mosquito, la saliva del mosquito y la infección al virus.

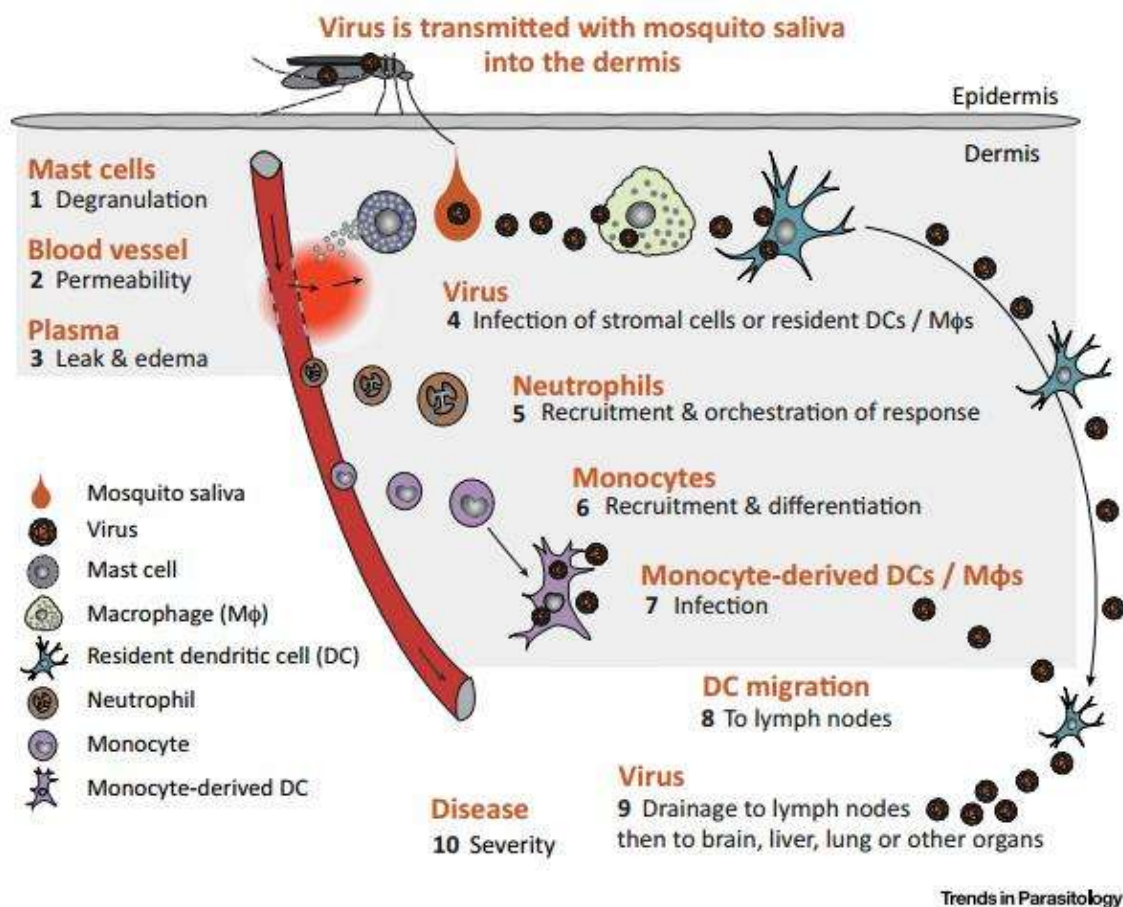


Figura 5. Respuesta Inmune después del arbovirus (1)

“Después de la picadura del mosquito, se interrumpe la continuidad del vaso sanguíneo y de la dermis. El mosquito inyecta saliva que tiene microbiota y sustancias bioactivas que causan inflamación y que recluta leucocitos. El trauma ocasionado por la picadura también genera también inflamación.

La saliva del mosquito desencadena la degranulación de mastocitos que liberan histamina y quimiocinas para el reclutamiento de leucocitos, (1), también se aumenta la permeabilidad de los vasos sanguíneos (2) y deriva a una fuga del plasma hacia la piel causando edema (3). El virus infecta a células del estroma como fibroblastos y células Detríticas (DC) o macrófagos (MF) residentes de las dermis (4). El trauma por la picadura, la saliva y la infección conducen al reclutamiento de neutrófilos (5), éstos a su vez secretan

atravesantes adicionales para reclutar monocitos (6). Los monocitos se diferencian por las CD inflamatorias y las MF que pueden ser objetivo en una segunda ola de infección por el virus (7). Al mismo tiempo, las DC de la dermis residentes migran a lo largo de los vasos linfáticos hacia los ganglios linfáticos. La diseminación de este virus puede acelerarse a través de la filtración de plasma inducida por saliva en la piel y contribuir a la exacerbación de la gravedad de la enfermedad (10), después el virus puede diseminarse hacia órganos como cerebro, hígado, pulmón y/u otros órganos” (1).

La respuesta inmune en la infección de Zika, aún no se conoce del todo. De manera interesante se ha demostrado que la infección humana por Zika induce una reducción de IFN- $\gamma$  que producida por las células T CD4 (17).

También es sabido que los anticuerpos específicos de Zika aparecen en suero de 2 a 3 días del inicio de fiebre en la infección. Las células B secretan inmunoglobulinas específicas para Zika como IgG, IgA e IgM y se vuelven prácticamente indetectables en circulación 20 días después del inicio de la fiebre (18).

## **Manifestaciones clínicas y definición operacional**

Se aproxima que el 80% de las personas que cursan con esta viremia son asintomáticas(19)(15), 20% desarrolla una fiebre muy similar a otras fiebres virales, como el Dengue y la influenza y se estima que Menos de 1% de los pacientes desarrolla síntomas neurológicos variables (desde una rigidez de nuca y desorientación hasta una parálisis flácida aguda, meningoencefalitis y muerte) (19) . En los pacientes que llegan a presentar síntomas, se estima que el virus presenta un tiempo de incubación entre 3 a 12 días, con manifestaciones de aproximadamente de 2 a 7 días, estas manifestaciones por lo general son autolimitantes (20).

De acuerdo a los lineamientos del InDre se define como Caso Probable de Enfermedad por el Virus Zika al Paciente que presente exantema (generalmente maculopapular y pruriginoso) y al menos dos o más de los siguientes signos o síntomas (19):

- Fiebre,

- Cefalea,
  - Conjuntivitis (no purulenta/hiperemia)
  - Artralgias,
  - Mialgias,
  - Edema periarticular,
  - Prurito,
  - Dolor retroocular
- y además se identifique alguna asociación epidemiológica:
    - Presencia del vector *Aedes aegypti* o *albopictus*, o
    - Antecedente de visita o residencia en áreas de transmisión en la últimas dos semanas previas al comienzo del cuadro clínico, o
    - Existencia de casos confirmados en la localidad.
    - Tenga antecedente de contacto sexual sin protección en las 2 semanas previas a la aparición de los síntomas, con una persona que en las 8 semanas previas al contacto sexual tenga antecedentes de residencia o viaje a un área con transmisión local del VZIK o con presencia de vectores.

• **Caso Probable en mujeres embarazadas de Enfermedad por el Virus del Zika:** Toda mujer embarazada que presente dos o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, exantema, conjuntivitis (no purulenta), cefalea, mialgias, artralgias o dolor retroocular, edema periarticular, prurito y que se identifique alguna asociación epidemiológica.

• **Caso Confirmado de Enfermedad por el Virus del Zika:** Todo caso probable con resultado positivo a Zika mediante la detección de ARN viral mediante RT-PCR en tiempo real en muestras de suero tomado en los primeros cinco días de inicio del cuadro clínico. En seguimiento a casos de Síndrome de Guillain-Barré (SGB) asociados a Zika, positivos mediante RT-PCR en tiempo real, en muestras especificadas desde el inicio de la parálisis hasta el día 17. Las muestras idóneas son la orina y saliva.

## **Tratamiento, prevención y vacuna**

Actualmente no existe fármaco antiviral específico para la infección virus Zika, por lo que el tratamiento consiste en medicamentos que ayuden a aminorar los síntomas, como antiinflamatorios no esteroideos, analgésicos no salicílicos (como el paracetamol) y antihistamínicos para contrarrestar el prurito asociado al exantema. No se aconseja el uso de aspirina debido al riesgo de sangrado y el riesgo de desarrollar síndrome de Reye en niños menores de 12 años de edad. También se recomienda reposo y la ingesta de abundantes líquidos para reponer la depleción por sudoración, vómito y otras pérdidas insensibles (21).

A pesar de haber varios grupos de investigadores que tienen en desarrollo la vacuna (22), ésta aún no ha sido aprobada para humanos en la fase clínica.

Debido a que aún no hay tratamiento ni vacuna para esta infección, la OMS recomienda seguir ciertas algunas medidas para evitar la infección (20):

### **Para evitar la picadura del mosquito:**

- ❖ Utilizar ropa de manga larga y que cubra las áreas expuestas, preferentemente de colores claros.
- ❖ Instalar barreras físicas como mosquiteros en puertas y ventanas, también se recomienda el uso de pabellones. Así como cerrar puertas y ventanas con el fin de evitar el paso al vector
- ❖ Utilizar repelentes de insectos que contengan DEET, IR3535 o icaridina, en áreas del cuerpo expuestas al piquete del mosquito, siguiendo las instrucciones de la ficha técnica del producto.
- ❖ Las autoridades sanitarias pueden aconsejar la fumigación con insecticidas.
- ❖ Evitar el nicho ecológico del mosquito, limpiando periódicamente, así como volteando, tirando y tapando recipientes que puedan acumular agua como cubetas, neumáticos, macetas, trastes, tapaderas, etc. (Campaña: lava, tapa, voltea y tira).

### **Para evitar la infección por transmisión sexual:**

- ❖ El caso de las áreas donde haya infección activa del virus, a población con vida sexual activa y especialmente en el caso de las mujeres embarazadas (con el fin de prevenir posibles resultados adversos del embarazo y eventuales perjuicios para el feto), se recomienda el uso de preservativo o abstinencia durante el embarazo.
- ❖ En caso de haber viajado a una zona endémica, al regreso de la zona de origen donde aún no hay evidencia del virus circulando, se recomienda mantener relaciones sexuales seguras o abstinencia sexual durante seis meses.

Debido a que no se han documentado casos de reinfección, se considera que la primera infección confiere protección ante segundas exposiciones al virus (23).

De forma interesante podemos destacar el reporte de casos donde un mismo paciente es portador del virus Zika y Dengue o Chikungunya, o inclusive Dengue, Zika y Chikungunya (24).

### **Origen virus Zika**

El virus Zika fue identificado por primera vez en 1947, en Uganda África, en un bosque ubicado en la región de Entebbe llamado Zika, de aquí viene el nombre del virus. Este hallazgo se hizo en un mono Rhesus que era monitoreado con el fin de estudiar la fiebre amarilla selvática.

Pero no fue hasta cinco años más tarde en 1952, que el virus Zika fue identificado en el suero de un mono Rhesus infectado por virus Zika en Uganda, África (25).

En 1968, en Nigeria, se aisló el virus Zika en muestras humanas demostrando así la potencial infectividad del virus en humanos(26) (27).

## Esparcimiento global y complicaciones asociadas

El virus se fue esparció por medio de su vector y causó el primer brote importante de abril a julio del 2007 en la Isla Yap en Micronesia. En este brote se notificaron 185 casos sospechosos, de los cuales sólo se pudieron confirmar 49 casos y se estimó que el 73% de la población mayor a 3 años contrajo la infección (28).

El segundo brote relevante ocurrió en la Polinesia Francesa, en octubre del 2013 y finalizó en febrero del 2014. En este brote se registraron un aproximado de 8,262 casos sospechosos de infección por virus Zika, de los cuales sólo se pudieron confirmar 396 casos por RT-PCR. Además se registraron, alrededor de 70 casos de infección por Zika que incluían complicaciones, entre éstas se encuentran 38 casos de Síndrome de Guillain-Barré, 25 casos de diversas complicaciones neurológicas (meningoencefalitis, encefalitis, parestesias, parálisis facial y mielitis) y 7 casos de otras complicaciones que incluían púrpura trombocitopénica inmune, afecciones oftalmológicas y cardíacas. (29).

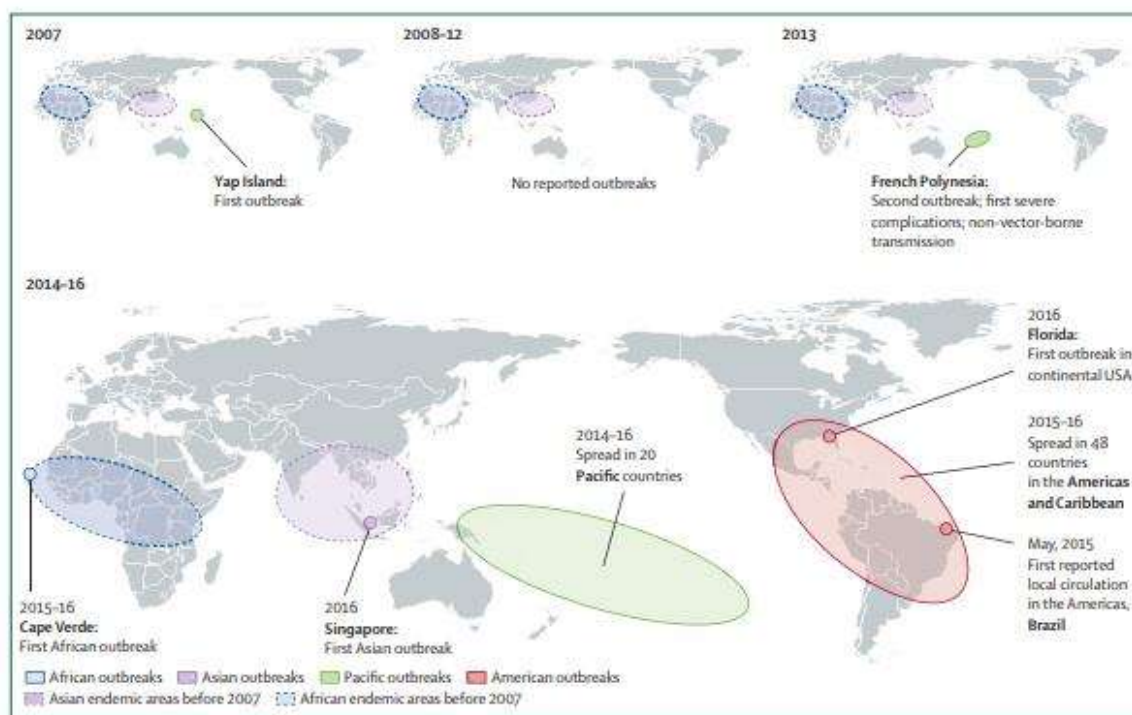


Figura 6. Brotes del virus Zika 2007-2016. (23)

## Virus Zika en Continente Americano y México

El primer caso autóctono en América fue reportado por el Ministerio de Salud de Chile, en la Isla de Pascua, en febrero del 2014. Posteriormente en el mayo del 2015 el Ministerio de Salud de Brasil, informa de la transmisión del virus en 14 estados. En el brote que se registró en Brasil se detectó un incremento de 20 veces los casos de microcefalia en áreas con transmisión de virus Zika. Entre octubre de 2015 y abril de 2016 Brasil notificó 7,150 casos de microcefalia y/o malformaciones congénitas que representan un incremento significativo en comparación con el periodo de 2001 a 2014 cuando el promedio de microcefalias por año fue de 163. De estos 7,150 casos, 1168 son sugestivos de enfermedad congénita por infección de virus Zika (30).

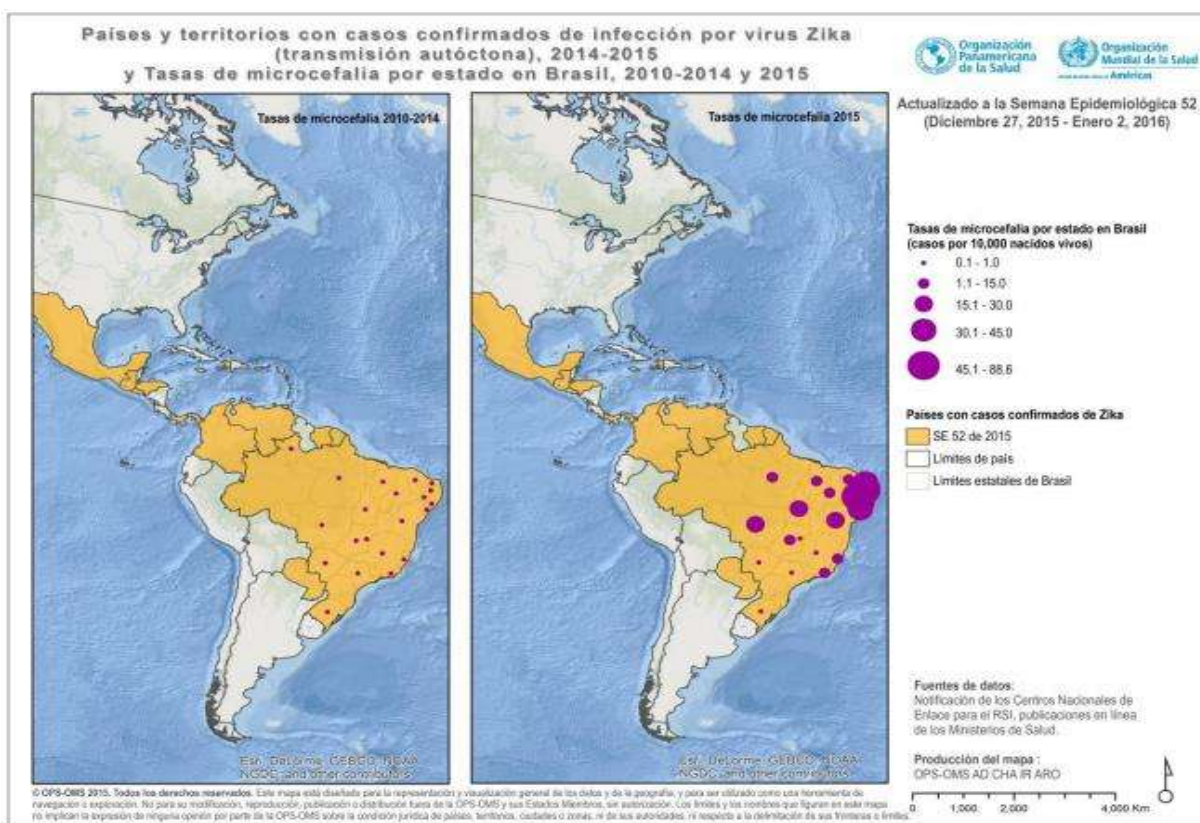


Figura 7.: Infección por virus Zika, 2015-2016, y tasas de microcefalia, 2010-2014 y 2015 en Brasil (31)

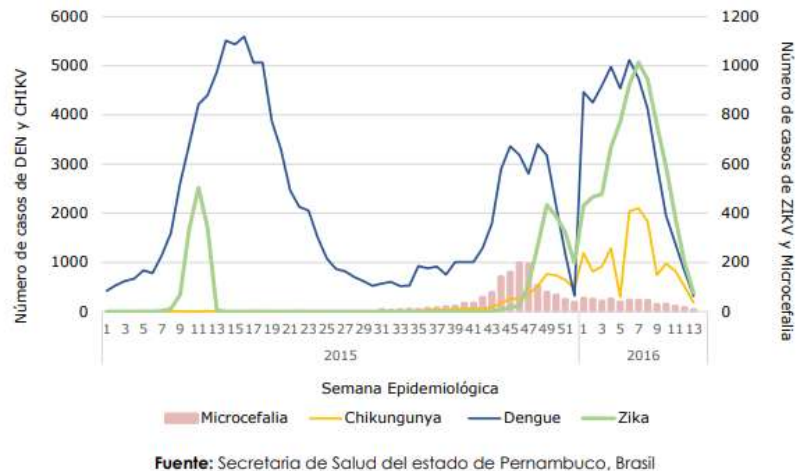


Figura 8. Casos notificados de virus Chikungunya, Dengue, Zika, y microcefalia en el estado de Pernambuco, Brasil, por semana epidemiológica, 2015-2016 (32)

Debido a esta evidencia la Organización Panamericana de la Salud emitió el 1 de diciembre del 2015 emitió la Alerta por Síndrome Neurológico, anomalías congénitas e infección por virus Zika debido al incremento inusual de recién nacidos con microcelia y malformaciones congénitas (33)

En octubre del 2015, Autoridades de Salud de Colombia notifican el primer caso autóctono en el estado de Bolívar.

## Zika en México

El virus Zika llegó a México a finales del 2015, ya que en noviembre del 2015 se confirmó el primer caso importado en Querétaro y el mismo mes se notificó del primer caso autóctono en el estado de Nuevo León.

En el periodo del 2015 al 2017, de acuerdo a la SINAVE/DGE/SS, se confirmaron un total de 11,917 casos confirmados autóctonos de enfermedad por virus Zika en la República Mexicana, siendo los estados más afectados: Veracruz (2,100 casos), Yucatán (1,299 casos) y Nuevo León (947 casos). En este periodo los casos fueron reportados en 29 de las 32 Entidades Federativas, lo que confirma la presencia del vector y el esparcimiento de la

viremia en casi la totalidad del territorio nacional. En el año 2018 (Hasta la semana epidemiológica 29, correspondiente al mes de julio) se han confirmado un total de 89 casos en la República Mexicana (34).



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



SECRETARÍA DE SALUD  
SUBSECRETARÍA DE PREVENCIÓN Y  
PROMOCIÓN DE LA SALUD  
DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

**“Casos Confirmados de Enfermedad por Virus del Zika”,  
Semana Epidemiológica 27 del 2018**

Fecha: 16 de julio de 2018.

**Casos Confirmados Autóctonos de  
Enfermedad por Virus del Zika, México, 2015-2018\***

<b>Entidad Federativa</b>	<b>Casos Confirmados 2015-2017</b>	<b>Casos Confirmados 2018</b>	<b>Total</b>
<b>Aguascalientes</b>	1	0	1
<b>Baja California</b>	3	0	3
<b>Baja California Sur</b>	51	5	56
<b>Campeche</b>	94	0	94
<b>Coahuila</b>	336	0	336
<b>Colima</b>	297	0	297
<b>Chiapas</b>	821	0	821
<b>Durango</b>	2	1	3
<b>Guanajuato</b>	0	5	5
<b>Guerrero</b>	885	2	887
<b>Hidalgo</b>	277	8	285
<b>Jalisco</b>	432	30	462
<b>México</b>	27	0	27
<b>Michoacán</b>	67	1	68
<b>Morelos</b>	499	5	504
<b>Nayarit</b>	678	8	686
<b>Nuevo León</b>	949	1	950
<b>Oaxaca</b>	514	0	514
<b>Puebla</b>	225	0	225
<b>Querétaro</b>	17	0	17
<b>Quintana Roo</b>	388	0	388
<b>San Luis Potosí</b>	524	6	530
<b>Sinaloa</b>	177	7	184
<b>Sonora</b>	84	0	84
<b>Tabasco</b>	367	8	375
<b>Tamaulipas</b>	802	0	802
<b>Veracruz</b>	2,100	2	2,102
<b>Yucatán</b>	1,299	0	1,299
<b>Zacatecas</b>	1	0	1
<b>Total</b>	<b>11,917</b>	<b>89</b>	<b>12,006</b>

Tabla1. Casos confirmados autóctonos de enfermedad por Virus Zika. México 2015-2018  
Semana epidemiológica 29(30 julio 2018). Fuente: SINAVE/DGE/SS

## Algoritmo operacional en México

De acuerdo a la DGE y SS en las zonas donde no se ha identificado la circulación del virus Zika, a los casos que cumplan con la definición de caso probable de infección por virus Zika se tomará muestra al 100% de los casos probables; una vez identificada la circulación del virus se procederá a muestrear solamente el 5% de los casos que cumplan definición operacional de caso probable, a excepción de las embarazadas que cumplan la definición operacional de caso probable de infección por virus Zika que se tomará muestra al 100% (35).

## Complicaciones Asociadas a Zika en México: Síndrome de Guillain-Barré y Síndrome Congénito Asociado a Zika

Respecto a las complicaciones asociadas a esta infección como el Síndrome de Guillain-Barré (SGB), en México se han registrado 19 casos confirmados de SGB asociado a Zika hasta febrero del 2018 (36).



Casos confirmados de Síndrome de Guillain-Barré asociado a Zika en México.

Caso	Edad	Sexo	Entidad federativa de infección	Institución que realizó seguimiento y reporte	Diagnóstico	Estado del paciente
1	5	F	Chiapas	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
2	5	M	Tabasco	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
3	6	F	Tabasco	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
4	48	M	Guerrero	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
5	59	F	Chiapas	ISSTECH	PCR	Vivo
6	37	M	Chiapas	Instituto Mexicano del Seguro Social	PCR	Vivo
7	26	M	Quintana Roo	Hospital Privado	PCR	Vivo
8	39	F	Guerrero	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía	PCR	Vivo
9	25	M	Michoacán	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía	PCR	Vivo
10	60	M	Guerrero	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía	PCR	Vivo
11	45	F	Veracruz	Instituto Mexicano del Seguro Social	PCR	Vivo
12	75	M	Guerrero	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía	PCR	Vivo
13	39	F	Veracruz	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
14	16	M	Guerrero	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
15	37	M	Guerrero	Secretaría de Salud	PCR	Vivo
16	36	M	Sin precisión, notificado por Estado de México	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía	PCR	Vivo
17	57	M	Yucatán	ISSSTECALI, Baja California	PCR	Vivo
18	50	M	Morelos	Instituto Mexicano del Seguro Social	PCR	Vivo
19	9	M	Morelos	Instituto Mexicano del Seguro Social	PCR	Vivo

FUENTE: SINAVE/DGE/SS: Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedad por virus del Zika. Actualizado al 6 de febrero de 2018.  
**Nota aclaratoria del proceso de confirmación:**  
 El proceso de confirmación se realiza mediante la inclusión de las pacientes a un protocolo de estrecha vigilancia clínica y epidemiológica que consiste en estudio y seguimiento de la evolución de los casos, resultados por laboratorios pertenecientes a la Red Nacional y revisión del diagnóstico final por grupo multidisciplinario de expertos; es por ello que el estudio minucioso de estos pacientes llevó varias semanas hasta su plena confirmación.

Tabla 2. Casos confirmados de Síndrome de Guillain-Barré asociado a Zika en México, hasta febrero 2018. Fuente SINAVE/DGE/SS

En cuanto a las anomalías congénitas, en México hasta junio del 2018 se encuentra el reporte de 40 casos confirmados de Síndrome Congénito Asociado a Zika por la DGE/DGAE/InDRE/INPer (37).

Estos reportes de Síndrome de Congénito Asociado a Zika incluyen defectos de nacimiento como microcefalia, microcefalia en uno de dos gemelos, macrocefalia, hidrocefalia, anencefalia, pie equino varo, cardiopatía congénita, ventriculomegalia, ventriculomegalia bilateral, craneosinostosis y anencefalia.

En cuanto al estado del paciente, se han reportado 9 fallecimientos y 1 caso de mortinato.

### Diagnóstico del virus Zika

Debido a que los signos y síntomas del virus Zika, se pueden confundir fácilmente con otras arbovirosis como el DENV y CHIKV, las manifestaciones clínicas no son suficientes para establecer un diagnóstico certero de esta infección. Por esta razón es necesario el diagnóstico apoyado en técnicas moleculares.

SÍNTOMAS	DENGUE	CHIKUNGUNYA	ZIKA
Fiebre	++++	+++	+++
Mialgia/artralgia	+++	++++	++ ↓
Edema en extremidades	0	0	++ ↑
Exantema maculopapular	++	++	+++ ↑
Dolor retro-orbital	++	+	++
Conjuntivitis	0	+	+++ ↑
Linfadenopatías	++	++	+ ↓
Hepatomegalia	0	+++	0
Leucopenia/trombocitopenia	+++	+++	0
Hemorragia	+	0	0

Tabla 3. Diferencias y similitudes del Dengue Zika y Chikungunya.(38)

La técnica validada por el InDRE para el diagnóstico confirmatorio del virus Zika es por medio de RT- PRC debido a su excelente sensibilidad y especificidad, además de evitar los falsos positivos debido a las reacciones cruzadas con otros flavivirus (15).

Para un diagnóstico certero la muestra sanguínea debe ser tomada en los primeros cinco días de infección ya que en este periodo es cuando la carga viral es más alta. También es importante que todas las muestras sean preservadas en una estricta red de frío de de 2 a 8 °C, esto con la finalidad de garantizar el correcto diagnóstico de la identificación del virus (19).

En caso de aislar el virus en diferentes fluidos es necesario que éstos sean colectados en un número de días específico del inicio de síntomas:

Orina y saliva en caso de SGB o Parálisis Flácida aguda: hasta 17 días después del inicio de síntomas si no se les tomó muestra en fase aguda.

Suero en fase convaleciente en madre embarazada sin antecedente de toma de muestra en fase aguda: desde el día 6 al 30 de evolución.

Suero del recién nacido con o sin seguimiento de SGB: hasta 5 días después del nacimiento.

Orina del recién nacido: primeros 5 días de nacimiento en caso de no tener muestra en fase aguda, hasta 17 días después del nacimiento.

Líquido amniótico en mujeres embarazadas con malformaciones en el producto sustentadas con ecografía: toma en el momento necesario.

Necropsia de órganos: inmediatamente después de la defunción.

Aunque existen otras técnicas para el diagnóstico de virus Zika, como el NAT, cultivo, identificación de Inmunoglobulinas IgG e IgM por medio de ELISA, y PRNT, éstas tienen las desventajas de ser menos sensibles y presentar reactividad cruzada con otros virus, entre otras. La técnica Trioplex en Tiempo Real RT-PCR para diagnóstico simultáneo de Dengue, Zika y Chikungunya ha sido autorizado por la FDA (Food and Drug Administration ) en situaciones de emergencia (15) (39).

## Breve línea de tiempo del virus Zika

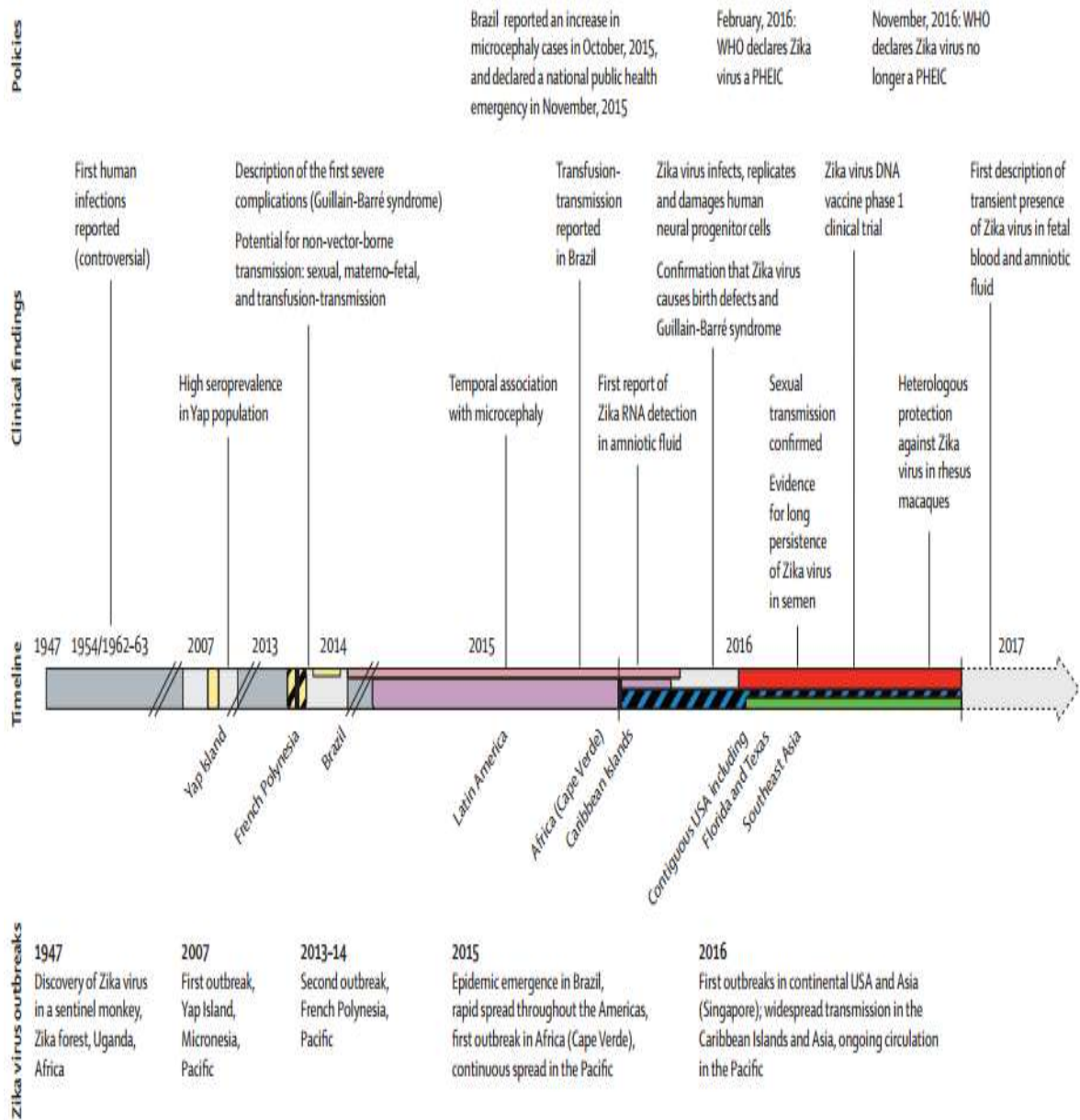


Figura 9. Línea del tiempo del virus Zika (23)

# PLAQUETAS

## Introducción

Las plaquetas son parte de los elementos formes de la sangre, son células anucleadas, y son los elementos formes más pequeños de la sangre, ya que miden de 2 a 4 micras y de 0.6 a 1.3 de grosor. Las cifras normales del conteo plaquetario oscilan entre 150 a 450 mil/uL. Las plaquetas tienen una vida media de entre 9 y 12 días. Debido a que las plaquetas contienen mRNA pueden sintetizar varias proteínas (40).

Estas células provienen de la escisión de fragmentos del megacariocito que se encuentra en médula ósea, a este proceso se le conoce como megacariopoyesis y está mediada por diferentes citocinas incluyendo la IL 6, o factores de crecimiento, también la trompoyetina tiene un papel clave. Un solo megacariocito puede formar aproximadamente 1000 plaquetas que se liberarán a la circulación (41)

Las plaquetas normalmente circulan de forma de inactiva en la sangre. Su función tradicional es de células responsables de la coagulación y la trombosis. La activación plaquetaria y el elevado conteo plaquetario conocido como trombosis, está asociado a complicaciones tromboticas, mientras que un bajo conteo plaquetario o trombocitopenia y la disfunción plaquetaria incrementan el riesgo de sangrados.

Las plaquetas tienen en su membrana receptores plaquetarios glucoproteicos que se dividen en 4 tipos: las integrinas, las glucoproteínas ricas en leucina, las selectinas y la superfamilia de las inmunoglobulinas.

Las plaquetas contienen tres diferentes tipos de gránulos en los que almacenan diversas sustancias con funciones variadas, que no solamente se limitan a funciones hemostáticas. Se estima que los gránulos plaquetarios contienen más de 300 proteínas con diversas funciones bioactivas incluyendo citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, proteínas hemostáticas y agentes bactericidas (42). Los  $\alpha$ -gránulos que son los gránulos más abundantes contienen 284 proteínas. Los gránulos responden diferente dependiendo del estímulo (43).

Tabla 4. Características generales de los gránulos plaquetarios (40)(42)(44)(45).

	Número/ plaqueta	Diámetro (nm)	Superficie área ( $\mu\text{m}^2$ )/plaqueta	Biomarcadores	Función general
a-gránulos	50-80	200-500	14	VWF CXCL4 (PF4) P-selectina Factor V, XI, XIII PDECGF PAF TGF- $\beta$ 1 IL-1B MIP-1a	Hemostasia-trombosis Inflamación Angiogénesis Defensa del Huésped Mitogénesis
Gránulos densos	3-8	150	<1	CD63 Serotonina ATP ADP Calcio Magnesio Epinefrina Dopamina	Hemostasia-trombosis Inflamación
Gránulos lisosomales	<3	200-250	<1	Fosfatasa ácida Catepsina Proteínas Lisosomales de membrana	Digestión Endosomal

VWF: Factor Von Willebrand

PF4. Factor Plaquetario 4

PDECGF: Factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas

PAF: Factor Activador Plaquetario

TGF-B1. Factor de crecimiento tumoral  $\beta$ 1

## **Activación plaquetaria.**

Las plaquetas inactivas tiene forma discoide, y circulan en sangre periférica en estado quiescente, sin embargo son activadas por diferentes estímulos como daño endotelio, y en condiciones patológicas como inflamación o infecciones (43)(46).

Los estímulos fisiológicos necesarios para la activación plaquetaria son el FvW, trombina, colágeno, ADP, tromboxano A<sub>2</sub>, epinefrina, (40) (47). Estos también promueven la agregación plaquetaria(48).

La activación plaquetaria es una condición en la que las plaquetas al cambian su conformación, se agregan mediante la interacción de su receptor GP IIb-IIIa y liberan de su citoplasmas por medio del sistema canicular abierto el contenido de sus gránulos con diversas funciones biológicas (40).

Debido a un reacomodo proteico en su citoesqueleto, las plaquetas aumentan su volumen emitiendo pseudópodos. Este aumento de volumen puede ser evidenciado en las Biometrías hemáticas, ya que el volumen normal de plaquetas es de 7 a 11 femtolitros.

La activación plaquetaria puede ser evidenciado por medio de la citometría de flujo y por Agregometría plaquetaria. Al activarse las plaquetas liberan de su citoplasma a través de su sistema canicular abierto y diferentes biomarcadores como la B-tromboglubulina y el PF 4, RANTES, CD40L, P-selectina, éstos biomarcadores se proponen como evidencia de la activación plaquetaria (48).

La activación plaquetaria está asociada tradicionalmente en la patogénesis de enfermedades como aterosclerosis, enfermedad vascular coronaria y enfermedades cerebro-vasculares. Anormalidad de la activación plaquetaria ha sido asociada con fibrilación auricular, enfermedad vascular periférica, Alzheimer, trastornos inflamatorios del intestino. También parece ser influenciada por la diabetes mellitus, hábitos de fumar, hipertensión y el uso de anticonceptivos orales(48).

Dentro de las funciones inmunológicas de las plaquetas está la detección de patógenos, la atracción y reclutamiento de leucocitos para facilitar la función de estos en el contexto de infección, la mediación de procesos de NETosis y la presentación de antígenos. También

participan en infecciones virales a través de kinocidinas (quimiocinas microbidas), HDPS (host defense peptides: péptidos de defensa del hospedero) (49)(50)(51).

## **Plaquetas y su nexa con la inflamación**

La activación plaquetaria como respuesta a la inflamación resulta en alteraciones de las propiedades de la quimiotaxis, proteólisis y propiedades de adhesión de las células endoteliales, que liberan potentes proinflamatorios y mutagénicas sustancias, derivando en una quimiotaxis en los monocitos, adhesión y migración al sitio local de inflamación. De manera análoga la IL1-b es el mayor mediador de la inflamación secretado por las plaquetas.(43)

Después de un daño del endotelio o en la infección, las plaquetas se adhieren al endotelio inflamado y ayudan al reclutamiento de células de la inmunidad innata y adaptativa. Por medio de la liberación de mediadores parácrinos (como quimiocinas, citocinas, factores de crecimiento, moduladores de la angiogénesis, etc) y la expresión de receptores de la superficie, de esta forma contribuyen a la inflamación y coordinan acciones que tiene como objetivo la reparación del tejido (52) .

Otro aspecto importante de las plaquetas en la inflamación es que las plaquetas pueden liberar micropartículas PMPs (Platelet microparticles), también conocidas como microvesículas. Las PMPs miden de 0.1 a 1 micrómetros de diámetro, y aunque no son las únicas células que las producen, si son la fuente más abundante en circulación. Éstas pueden soportar la generación de trombina, incluso en ausencia de las plaquetas intactas y también son capaces de expresar de Factor Tisular que puede iniciar la coagulación. Por medio de citometría de flujo, se ha observado la presencia de estas microparticulas derivadas de plaquetas, éstas son liberadas en condiciones de inflamación, infección y en enfermedades autoinmunes como en la artritis reumatoide. Dentro de sus funciones está la reparación vascular, aunque en modelos murinos de estudio de cáncer se ha demostrado

que pueden tener papeles en la Angiogénesis y metástasis. De hecho, se ha visto una asociación en pacientes con cáncer y riesgo de trombosis venosa(41)(42).

El LCD40s liberado y expresado después de la activación plaquetaria, puede interactuar con sus receptores localizados en células endoteliales desencadenando varias reacciones inflamatorias que conducen a la liberación local de moléculas de adhesión como ICAM1, VCAM1 y CCL2. Después de la exposición a LCD40s expresada en células vasculares, incluyendo a células endoteliales, se induce la expresión de moléculas de adhesión como E-Selectina y P-Selectina y se inicia la liberación de la IL 6 y el Factor Tisular(41).

La plaquetas activadas también son una fuente de citocinas como la CXCL12, CCL5 (RANTES), CXCL4 (Platelet Factor 4), CXCL7 (CTAP-III) y CXCL12 (8SDF-1), éstos se encuentran almacenados en los gránulos alpha y son secretados en la inflamación, estas citocinas tienen diversas funciones como el reclutamiento de monocitos, Polimorfonucleares (PMNL) e incluso células progenitoras en las lesiones ateroscleróticas(43).

Las plaquetas liberan de sus gránulos densos entre otros componentes bioactivos, a la histamina, que incrementa la permeabilidad vascular y participa en la vasodilatación(53). Además el derivado plaquetario MIP-1a puede estimular la liberación de histamina de los basófilos y es quimiotáctico de las células T(41).

## **Plaquetas en infecciones virales**

La participación de plaquetas se ha descrito en años recientes en diversas infecciones virales entre las que destaca el dengue, donde en la forma severa puede haber trombocitopenia.

En julio de 2015, Simon y colaboradores (54) demostraron que el DENV se une a la superficie plaquetaria a través de dos receptores para DENV: HSP y DC-SIGN y que las

plaquetas son capaces de producir virus viables e infecciosos y liberarlos a circulación, convirtiéndolas en colaboradores activos para el ciclo viral. Aunque lo anterior ha sido demostrado solo para DENV, es posible que otros virus RNA de cadena sencilla puedan ser a su vez replicados por plaquetas.

Se ha demostrado que las plaquetas de pacientes infectados por DENV, muestran una capacidad de activación incrementada al compararlas con plaquetas de sujetos sanos; así como signos de disfunción mitocondrial y activación de apoptosis mediada por caspasas (55).

Punyadee y colaboradores (56) demostraron que las micropartículas plaquetarias (MPS) circulantes son un biomarcador que puede predecir el dengue severo. La liberación de MPS es una consecuencia de activación celular y de apoptosis, en este estudio, se identificaron MPS plaquetarias en sangre de pacientes infectados con DENV (virus dengue), estas MPS muestran en su superficie las proteínas virales DENV E y NS1 lo cual demuestra que las plaquetas incorporan a su membrana celular proteínas virales. El estudio sugiere que las MPS derivadas de plaquetas pueden contribuir a la tendencia hemorrágica que ocurre en pacientes con dengue (56)

En infección por CHIKV, se ha demostrado que el interferón (IFN) producido por fibroblastos infectados induce una elevada expresión de prostaglandinas en estas células, las cuales incrementan la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub>. Este es un potente activador plaquetario.

En otras infecciones virales las plaquetas desempeñan también un papel importante. Tsegaye y colaboradores demostraron que la activación plaquetaria que conduce a liberación de CXCL4 (también llamado factor plaquetario 4) inhibe la infección por HIV-1 de células T in vitro (57).

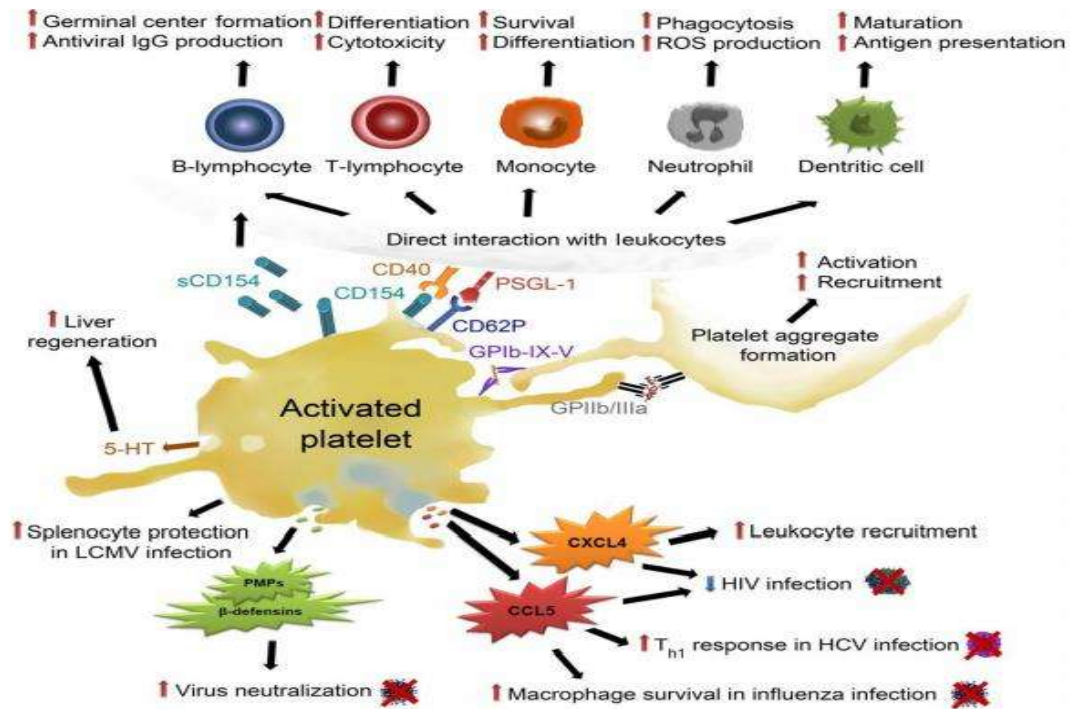


Figura 10. Efecto de la activación plaquetaria en las infecciones virales y su nexco con el sistema inmune(58)

“La liberación de CXCL4 o PF4 (C-X-C quimiocina ligando 4) de los gránulos alpha tiene efecto para combatir la infección por VIH (Virus de la Inmodeficiencia Humana) , al igual que CCL5 (Quimiocina motivo C-C, ligado 5), ésta también potencia la respuesta TH1(Linfocito T-Helper Tipo 1) de los linfocitos en la infección del Virus de la Hepatitis C (HCV) y sirve como señal de supervivencia para los macrófagos en la infección por influenza. Las plaquetas liberan PMPs (Péptidos Plaquetarios Antimicrobianos) y B-defensinas de sus gránulos alpha los cuales median la neutralización de virus. Éstas protegen a los esplenocitos de la necrosis en la infección por virus coriomeningitis linfocítica (LCMV). Los gránulos densos contienen 5-TH(serotonina) que permite la regeneración del hígado, pero también en las infecciones por virus de la Hepatitis B y C (HBV, HCV). La expresión de CD154 y CD62P (P-Selectina) permiten una interacción plaqueta-leucocito. La interacción plaqueta con linfocito B permite la formación del centro germinal y la producción de IgG (Inmunoglobulina G) antiviral. Las plaquetas promueven la diferenciación del Linfocito T y citotoxicidad, así como también incrementan la diferenciación y supervivencia de monocitos. En cuanto a los neutrófilos, la adhesión plaquetaria estimula la producción de ROS (Especies reactivas de Oxígeno) y aumenta la fagocitosis. La interacción de las plaquetas con las células dendríticas promueve su maduración y facilitan la presentación antigénica. Finalmente, la activación plaquetaria da como resultado la interacción y la activación de más plaquetas, lo que desencadena las plaquetas agregación y amplifica los procesos descritos anteriormente”. GP: Glicoproteína. PSGL-1: P-selectina (CD62P) glicoproteína Ligando 1. sCD40: Ligando CD154/CD40 soluble.

# FIEBRE

## Introducción

La temperatura corporal está regulada por el hipotálamo, éste es órgano encargado del registro de la temperatura corporal. Las neuronas de su porción anterior y posterior de la región preóptica reciben dos tipos de señales: una procedente de los receptores de frío y calor que llegan por los nervios periféricos y otra de la sangre que baña esta región. Aunque la temperatura de un individuo sano en un ambiente neutro es de 37 ° C, esta temperatura registra leves variaciones durante el día dependiendo de la actividad física y de las condiciones climáticas. La variación normal de temperatura es de 0.5° C (59).

El exceso de calor se disipa por medio de la piel, y la respiración. Mientras que el proceso de fiebre de llevará a cabo por medio de la vasoconstricción de manos y pies debido a la desviación de sangre que se aparta de la periferia hacia los órganos internos, se aumentará la actividad metabólica muscular (temblor y escalofríos), esto disminuirá la pérdida de calor por la piel pero el paciente percibirá frío por lo que el instinto conductual como abrigarse tendrá como objetivo reducir las superficies expuestas y ayudar a elevar la temperatura corporal (59)(60).

Si se administran antipiréticos o la secreción de las citocinas pirógenas disminuyen, habrá un nuevo reajuste en el “set point” del hipotálamo a un punto más bajo. La pérdida de calor se logrará por medio de la sudoración y vasodilatación. En caso de administración de antipiréticos, como el paracetamol, la baja de temperatura será consecuencia de la inhibición de la ciclooxigenasa, que es una enzima de la prostaglandina. De manera fisiológica, para contrarrestar el efecto pirógeno son secretados los criógenos, su efecto puede ser inhibiendo citocinas inflamatorias, o bien, bloqueando receptores. Los criógenos son citocinas antiinflamatorias como la IL10, hormonas como la hormona estimulante de melanocitos y corticotrofinas , y muchos productos neuroendocrinos como neuropéptidos, bombesina, tiroliberina, y citocromo P450 (61) (62).

La fiebre se define como un aumento de la temperatura de corporal de 1 a 4 ° C. De acuerdo a la Organización de la Salud (WHO) y a la Sociedad de Medicina de Cuidados

Críticos y Enfermedades Infecciosas de la Sociedad de América (siglas en inglés IDSA), la temperatura rectal igual o mayor a 38 °C y la temperatura axilar mayor o igual a 37.5 °C, son indicativos de fiebre tanto en niños como en adultos (63)(64). Sin embargo la temperatura de 37.5°C es muchas veces considerada como febrícula y no como fiebre, es por esto que estos términos generalmente serán interpretados por los médicos tratantes.

La fiebre es un signo que se ha descrito también un sello distintivo en la respuesta de fase aguda en procesos inflamatorios, y las infecciones, aunque la infección, no es la única causa de fiebre. Las temperaturas febriles y la respuesta inflamatoria están estrechamente relacionadas, esto fue descrito por Celcus en el siglo I DC donde propuso que los cuatro signos cardinales de la inflamación son: calor, dolor, rubor e hinchazón. Este “calor” tiene un alto costo metabólico, ya que un aumento de 1°C en la temperatura corporal requiere un aumento del 10-12% en la tasa metabólica y aumenta el 13% del gasto de oxígeno, por lo que puede agravar la insuficiencia cardíaca, cerebrovascular o pulmonar previas (65).

## **Causas de la fiebre**

La fiebre está causada por sustancias llamadas pirógenos, estas sustancias se clasifican en pirógenos endógenos y exógenos.

Los pirógenos exógenos proceden del entorno del paciente, como los microorganismos y sus productos como los lipopolisacáridos y toxinas. Los pirógenos endógenos son citocinas provenientes de diversas células, como los monocitos, macrófagos, neutrófilos, linfocitos y células endoteliales. Estas proteínas de bajo peso molecular regulan diversos procesos inmunitarios, hematopoyéticos e inflamatorios. Como ejemplos podemos mencionar a la IL-1, IL6, TNF  $\alpha$ , IFN  $\gamma$ . Estas citocinas son secretadas por diversas causas como por infecciones tanto bacterianas, así como fúngicas y virales. En ausencia de infección también pueden ser secretadas por procesos como inflamación, traumatismo, necrosis de tejido y complejos antígeno-anticuerpo (66).

Tabla 5. Pirógenos endógenos y exógenos comunes (67)

PIRÓGENOS ENDÓGENOS Y EXGÓGENOS COMUNES
Interleucina 1
Factor de Necrosis Tumoral
Interferones
Complejos inmunes en presencia del complemento
Metabolitos de esteroides andrónicos (etiocolanolona)
Ácidos biliares
Componentes del complemento
Cristales de ácido úrico
Interleucina 2
Factor estimulador de colonias de granulocitos-monocitos (GM-CFS)
Endotoxinas de bacterias Gram negativas
Virus
Bacterias Gram Positivas
Exotoxinas de Staphylococcus spp. Y Streptococcus spp
Productos de hongos, micobacterias y espiroquetas
Algunos antígenos no bacterianos (albúmina, ovalbúmina, gamaglobulina bovina)
Lectinas de plantas (fitohemaglutinina, concanavalina A)
Adyuvantes sintéticos

## Patogénesis de la fiebre

Las citocinas liberadas por los monocitos principalmente que están involucradas en la fiebre se les conoce como citocinas pirógenas, esta clasificación incluye a la IL1, IL6 y TNF  $\alpha$ . Estas citocinas se unen a sus receptores localizados en las proximidades de la región preóptica anterior del hipotálamo. Aquí la interacción de citocina y su receptor activa la fosfolipasa A2, que conlleva a una liberación de ácido araquidónico en la membrana plasmática, que sirve como sustrato para la ruta de la ciclooxigenasa. Algunas citocinas parecen aumentar directamente la expresión de ciclooxigenasa, lo que conduce a la liberación de prostaglandina E2. Este pequeño mediador lípido se difunde a través de la barrera hematoencefálica y tiene su receptor en las células gliales, donde actúa en las neuronas preópticas sensibles al calor, lo que se traduce en la liberación del neurotransmisor AMPc mediando la activación de respuestas diseñadas para disminuir y aumentar la producción de calor (68)(59).

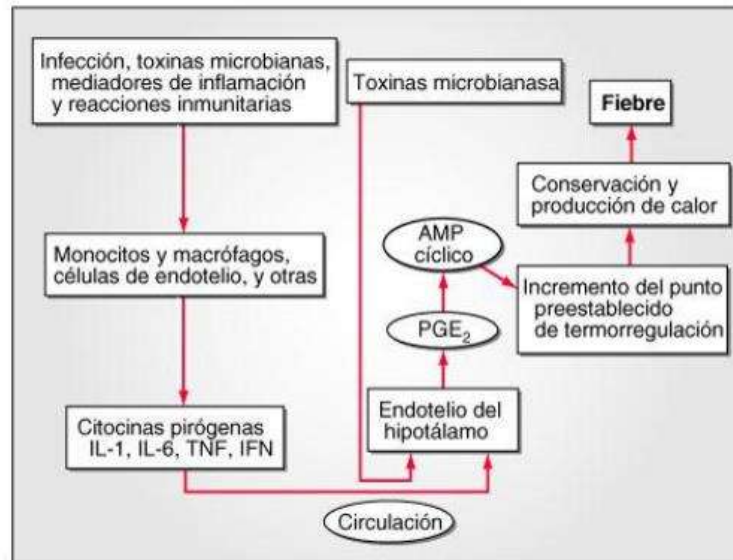


Figura 11. Patogénesis de la fiebre (59)

AMP5 monofasfato de adenosina. IFN interferón, IL Interleucina, PGE2 Prostaglandina E2, TNF Factor de Necrosis Tumoral

## Clasificación de la fiebre

La fiebre puede ser clasificada de acuerdo a su temporalidad, grado de severidad y según su distribución temporal (61) (69) (70):

Por temporalidad:

- Aguda: Fiebre que no supera los 7 días de evolución (infecciones de vías respiratorias altas, malaria y virus)
- Subaguda: Fiebre con no más de dos semanas de duración (abscesos intraabdominales, fiebre tifoidea).
- Crónica: Fiebre de más de 2 semanas (infecciones bacterianas crónicas, tuberculosis, VIH, cánceres y enfermedades del tejido conectivo).
- Fiebre de Origen Desconocido. Fiebre de que excede los 38.3°C en al menos tres ocasiones en 3 semanas o más sin diagnóstico conocido, pese a la investigación en pacientes hospitalizados.

Grado de severidad:

- Normal: 37-38 °C
- Fiebre de Grado bajo: 38.1 a 39 °C
- Fiebre de Grado Moderado 39.1 a 40 °C
- Fiebre de Alto Grado: 40.1- 41.1 °C
- Hiperpirexia: Mayor a 41.1 °C

Según la distribución temporal:

- Continua/Sostenida: fiebre que no fluctúa más de 1 °C durante 24 horas, pero en ningún momento llega a temperatura normal.
- Intermitente: fiebre presente solo durante varias horas durante el día.
- Remitente: fiebre con fluctuaciones diarias superiores a 2 °C, pero en ningún momento llega a temperatura normal.

## **Fiebre y sistema inmune**

El incremento de la temperatura corporal mejora la resistencia en animales hacia infecciones y es una respuesta evolutiva preservada dentro del reino animal con algunas excepciones (71)(72).

Se han reportado estudios que refuerzan la evidencia de los efectos benéficos de la fiebre, por ejemplo: correlación positiva entre supervivencia y temperatura máxima, pacientes con temperatura mayor a 38 ° C con supervivencia a peritonitis bacteriana, mayor tiempo en lesiones de costras en niños tratados con paracetamol en varicela respecto a los niños tratados con placebo, el uso de antipiréticos correlaciona con un aumento del 5% en la mortalidad en poblaciones humanas infectadas con el virus de la influenza y afecta negativamente el resultado del paciente en cuidado intensivo en hospitales. Además la fiebre tiene efectos sobre la función inmune, incluyendo la producción de anticuerpos, activación de células T, producción de citocinas, y mejora la función de los neutrófilos y macrófagos (65)(68).

La temperatura de rango febril controla varios aspectos cruciales de la inmunidad innata:

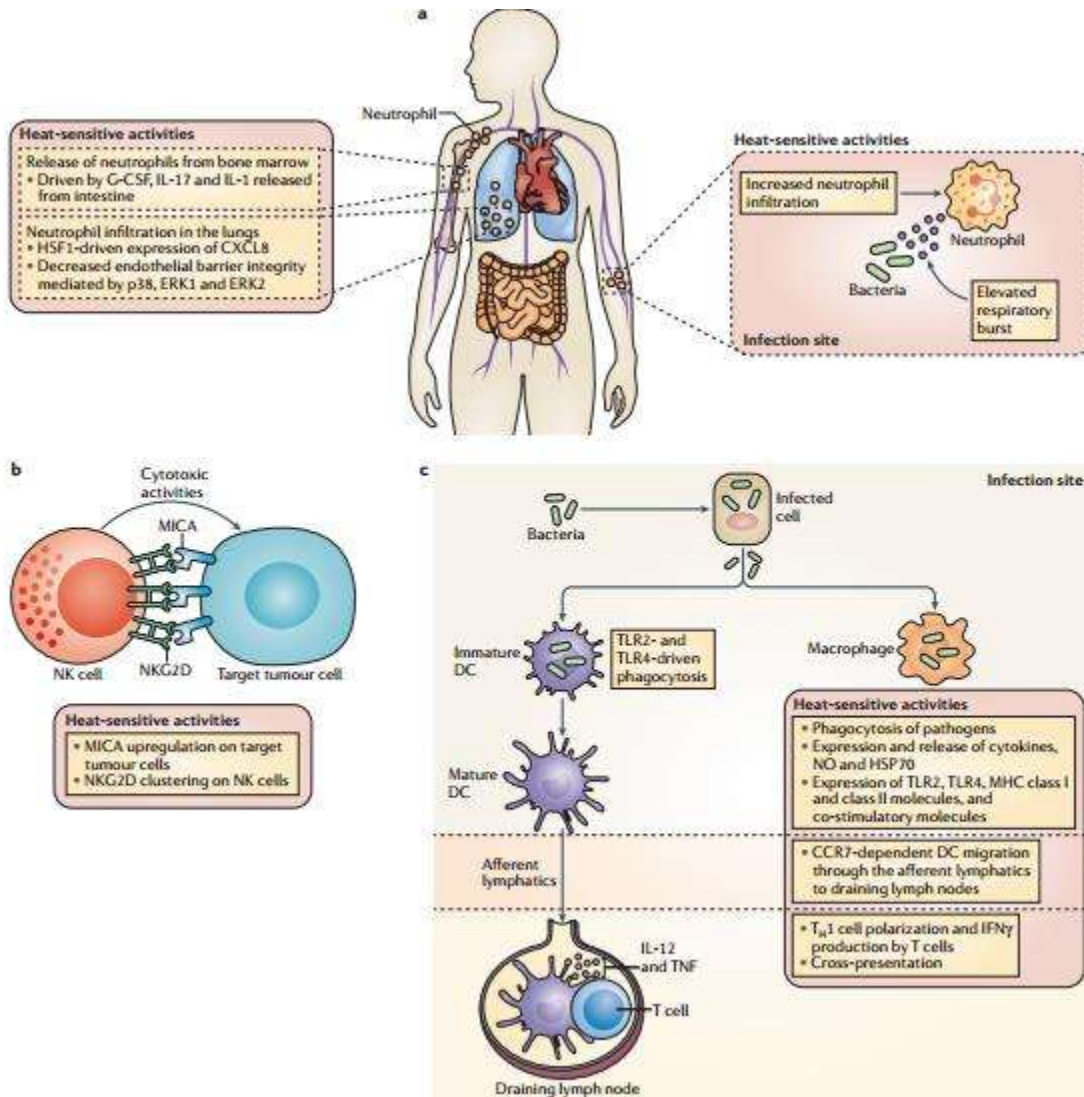


Figura 12. Respuesta de las células del sistema inmune innato al estrés térmico (65)

“a) Izquierda: La hipertermia de grado febril estimula la liberación de neutrófilos desde la médula ósea por medio del Factor estimulante de granulocitos (G-CSF). Derecha: También promueve el reclutamiento de neutrófilos a los pulmones y otros sitios de infección por la CXC-quimiocina Ligando 8 (CXCL8), esto implica una disminución de la función de la barrera endotelial en los vasos sanguíneos. Al llegar al sitio de infección, el estrés térmico eleva la explosión respiratoria que aumenta la actividad bacteriolítica de los neutrófilos.

b) El aumento de temperatura mejora la actividad citotóxica de las células asesinas naturales (NK), a través de la inducción de la secuencia A relacionada con el polipéptido del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) de clase I (MICA) en la expresión de células dianas, por ejemplo, células tumorales e induciendo el clustering del receptor MICA NKG2D en la superficie de las células NK90.

c) Las temperaturas en el rango febril aumentan la capacidad de presentar antígeno células, también mejora la capacidad fagocítica de los macrófagos y las células dendríticas (DC) y aumenta su capacidad de respuesta a los patógenos mediante la regulación positiva de expresión de receptor Toll-like 2 (TLR2) y TLR4 . También induce la liberación de moléculas inmunomoduladoras como citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), óxido nítrico (NO) y proteína de choque térmico 70 (HSP70). Además, el calor aumenta la expresión de moléculas MHC clase I y MHC clase II, así como moléculas coestimuladoras (CD80 y CD86), mediante CD maduras y aumenta su migración dependiente del receptor CC-quimiocina 7 (CCR7) a través del sistema

linfáticos aferentes que sirven como conducto para el drenaje de los ganglios linfáticos. Las DC expuestas a temperaturas febriles también son más eficientes presentando antígenos cruzados e induciendo la polarización de células T helper 1 (TH1).

ERK, quinasa regulada por señal extracelular; HSF1, proteína 1 del factor de choque térmico; IFN $\gamma$ , interferón- $\gamma$ ; IL, interleucina.” (65)

## Febre en Zika

La fiebre es uno de los signos más reportados en la infección por Zika, incluso ha llegado a figurar como uno de los signos eje junto con el exantema para definir el caso sospechoso de infección por Zika. A continuación mencionamos algunas de las definiciones operacionales donde vemos que la fiebre está contemplada en todas las descripciones de caso sospechoso de Zika(19) (73) (74).

Tabla 6. Definiciones clínicas de caso sospechoso de Zika y fiebre

Definición operacional	Descripción
PAHO-2015	<b>Exantema o fiebre &gt; 37.2 °C</b> con al menos uno de los síntomas: artralgias o mialgias, conjuntivitis no purulenta o hiperemia conjuntival, cefalea o malestar.
CDC-2016	Uno o más de los siguientes: <b>fiebre de inicio agudo (medido o reportado)</b> , exantema maculopapular, artralgias, conjuntivitis, complicaciones en el embarazo (pérdida fetal o microcefalia, y/o calcificaciones intracraneales), Síndrome Guillan-Barré sin asociación con otra etiología diagnosticada.
PAHO-2016	Exantema (generalmente maculopapular y pruriginoso), con al menos dos de los siguientes de los signos o síntomas: <b>Fiebre &lt;38.5°C</b> , conjuntivitis (no purulenta/hiperemia), artralgias, mialgias edema periarticular.
ECDC-2016	<b>Exantema con o sin fiebre</b> y al menos uno de los siguientes síntomas: artralgias o mialgias, o conjuntivitis no purulenta /hiperemia.
WHO-2016	<b>Exantema y/o fiebre</b> con al menos dos de los siguientes síntomas: artralgias o artritis o conjuntivitis (no purulenta /hiperemia).
Brasil (MoH)-2016	Exantema maculopapular pruriginoso con al menos dos de los síntomas: <b>fiebre</b> o conjuntivitis no purulenta o poliartralgias o edema periarticular.
OPS/OMS 2016	Exantema (generalmente maculopapular pruriginoso)y al menos dos de los siguientes: <b>fiebre generalmente &lt; 38.5°C</b> , conjuntivitis (no purulenta/hiperemia), artralgias, mialgias y edema periarticular
InDRE 2017	Exantema generalmente maculopapular y pruriginoso y al menos de las manifestaciones: <b>fiebre</b> , cefalea, mialgias, artralgias, prurito, edema, dolor retroocular y conjuntivitis (no purulenta/hiperemia)

PAHO Pan American Health Organization CDC Centers of Disease Control and Prevention ECDC European Centre for Disease Prevention and Control WHO World Health Organization Brasil Moh. Ministry of Health (Brasil)OPS. Organización Panamericana de la SaludOMS. Organización Mundial de la Salud InDRE Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos Dr. Manuel Martínez Báez.

El signo de fiebre en Zika ha sido descrito en varios estudios, ésta se describe como una fiebre de inicio agudo, y como pudimos ver en la tabla anterior, generalmente coincide en que esta elevación de temperatura es menor a 38.5 °C, y mayor a 37.2 °C. La fiebre con temperaturas más altas con manifestaciones clínicas similares están asociadas a otras arbovirosis con dengue o chikungunya (75)(76).

## **BIOMARCADORES**

### **Biomarcadores de inflamación**

#### **Interleucina 10**

La interleucina 10 (IL10) es una citocina antiinflamatoria e inmunosupresora de citocinas, es secretada por varias células, como las células B, Th1, Th2, Treg, Th9, Th17, Th22, células dendríticas, células NK, mastocitos, macrófagos, monocitos, eosinófilos, y otras células de la inmunidad innata (77).

Su función es la de inhibir el sistema de activación monocito/macrófago así como la síntesis de las citocinas de los monocitos y citocinas inflamatorias, también promueve la proliferación y maduración de células T no dependientes de monocitos, estimulando la proliferación de células B específicas de antígenos. IL-10 tiene efectos terapéuticos potenciales en enfermedades inflamatorias, así como en enfermedades autoinmunes donde hay una inflamación crónica (77).

Su receptor es el IL-10R. Su acción antiinflamatoria es debido a la represión de expresión de citocinas como la IL-1, IL-6 y TNF  $\alpha$ , IFN  $\gamma$  producida por células como macrófagos activados (78)(79).

Además de la IL-10 hay otras citocinas antiinflamatorias como la IL-4, IL-11, IL-13 y TGF $\beta$  (factor transformador de crecimiento  $\beta$ )(78).

## **Factor de Necrosis Tumoral alpha**

La familia de los TNF es secretado principalmente por monocitos, pero también por células T y B, macrófagos y Células NK. Es producido en respuesta a estímulos inflamatorios, tiene como receptor a TNF-RI Y TNF.RII(79) (80).

TNF estimula el eje hipotalámico de la hipófisis y como consecuencia son liberadas diversas hormonas, induce la liberación de proteínas de fase aguda en el hígado, activa las células endoteliales para que expresen moléculas de adhesión. El TNF sistémico puede causar fiebre, mialgias, caquexia, hipotensión, y otros signos de inflamación(80).

Dentro de sus funciones biológicas está promover la proliferación de células T, fibroblastos y células NK, también regula la apoptosis y está asociada a la activación de diversos genes que incluyen mediadores inflamatorios, también ayuda a la expresión de P-Selectina, y E-Selectina, así como el factor Tisular y la IL-8. Los monocitos que están activados por diversos estímulos como el TNF  $\alpha$ , prolongan su supervivencia debido a cambios en la regulación génica. (81). TNF tiene funciones dentro de la inflamación, infección e inmunidad, puede activar macrófagos, células endoteliales, también promueve respuestas celulares incluyendo el aclaramiento en las infecciones intracelulares bacterianas, proliferación celular y apoptosis, y la regulación de leucocitos a través de la expresión de quimiocinas y moléculas de adhesión (82).

## **Interleucina 6**

La IL 6 es una citocina proinflamatoria producida principalmente por macrófagos y linfocitos T activados, pero también por fibroblastos, células endoteliales y otras células somáticas, la IL-6 interacciona con su receptor IL-6R $\alpha$  y también puede formar complejos con su forma soluble(80).

Se produce enseguida de las primeras fases de la inflamación (poco después de IL-1 y TNF-a que son potentes inductores de de IL6), posteriormente al daño, los niveles de IL-6 se encuentran en circulación 60 minutos de la lesión (81). La IL6 tiene propiedades

proinflamatorias. De los efectos mejor conocidos de la IL 6 es de la inducción y control de la síntesis y secreción de las proteínas de fase aguda como CRP, fibrinógeno, amiloide A y hepcidina) en los hepatocitos ante estímulos como infecciones, traumas y quemaduras. Otros efectos de la IL 6 son la estimulación y diferenciación de la producción de anticuerpos en los linfocitos. También ayuda al maduración y activación de los neutrófilos, maduración de los macrófagos, diferenciación de las células NK, y aumenta la expresión de la IL-1 y TNF  $\alpha$ . Otro efecto importante es la estimulación, diferenciación y producción de los anticuerpos por las células B (79). La IL-6 activa a varias células como la los linfocitos T y B, macrófagos, megacariocitos, hepatocitos, células endoteliales y neuronales, y fibroblastos.

También es una citocina que induce la fiebre y que está exacerbada en las enfermedades autoinmunes inflamatorias. (80)

### **Interferón gamma**

El interferón gamma o interferón tipo II, es una citocina proinflamatoria producida por las células T Natural Killer (NK), Células T CD4 y CD8, y Células T. También hay reportes de que es producido por macrófagos, neutrófilos y células B, aunque su secreción en estas células es menor. IFN  $\gamma$  tiene como receptores a IFNGR1 e IFNGR2 que se encuentra expresado en Linfocitos NK, macrófagos, linfocitos Th1, CD8, y Células B. Su función es inhibir la propagación de virus por diversos mecanismos, incluyendo la actividad antiviral inhibitoria directa, la polarización y activación de las células T Helper, activando las células mieloides fagocíticas y macrófagos, mejora la expresión y presentación antigénica del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I y II. Además ha demostrado tener un papel importante combatiendo los virus que afectan al Sistema Nervioso Central (83)(84)(80). Además la IFN  $\gamma$  es una citocina pirógena, donde junto con la IL-6 juega un papel importante para la inducción de fiebre (85).

## **Biomarcadores de plaquetarios y de disfunción endotelial**

### **Factor Von Willebrand**

Es una glucoproteína plasmática, almacenada en los cuerpos de la Weibel Palade de las células endoteliales y los  $\alpha$ -gránulos de las plaquetas. Al ser liberado en plasma, se calcula que dentro del 75-85% del FvW es de origen endotelial, y el resto es plaquetario, por lo anterior es reconocido como un biomarcador de daño endotelial. Tiene una estructura multimérica, de bajo, intermedio y alto peso molecular.(86).

Su función más evidente es la de tener una función de adhesión al igual que la fibronectina para permitir la unión de las plaquetas al colágeno expuesto en la superficie endotelial. También da estabilidad al FVIII evitando la proteólisis por proteasas(86) (87).

El FvW es un marcador clásico de enfermedades cardiovasculares y riesgo protrómbotico. Debido a que ayuda a la agregación y adhesión plaquetaria, tiene un papel importante en la formación de trombos así como darle estabilidad. También tiene un papel importante en inicio de la formación de la placa de aterosclerótica (88).

El FvW se ha propuesto como un biomarcador de daño endotelial, ya que es liberado por las células endoteliales cuando hay daño endotelial; también tiene nexos con la inflamación, ya que media la adhesión y reclutamiento de leucocitos y plaquetas, la extravasación, activación de la cascada del complemento y la participación en la NETosis. Diversas citocinas pueden inducir la liberación del FvW, incluyendo al TNF  $\alpha$ ., IL6 e IL 8 (88) (89)(90).

### **PF 4**

También conocida como CXCL 4 o Factor Plaquetario 4. Pesa 7.8 kDa y es una proteína compuesta por 70 aminoácido (91). Esta quimiocina se encuentra en los gránulos  $\alpha$  de las plaquetas y es una de la proteína más abundante contenida estos gránulos y liberada durante la activación plaquetaria, por daño endotelial, inflamación, estrés oxidativo, y estimulación

por patógenos, incluyendo la interacción virus-plaqueta (58). Se considera que la biosíntesis de PF4 es casi exclusivamente limitada a los megacariocitos que derivan a las plaquetas circulantes (92). Dentro de sus funciones está promover la degranulación de neutrófilos, y adhesión a las células endoteliales, también promueve la diferenciación de monocitos a macrófagos, induce la fagocitosis y la generación de Especies Reactivas de Oxígeno (47), por lo que tiene un papel dentro de la inflamación. Además cuando hay una lesión tisular, actúa como un potente quimioatrayente para neutrófilos, monocitos y fibroblastos.

### **P-Selectina**

La P selectina o CD62, tiene un peso de 140 kDa y es una proteína altamente glicosilada. Es parte de familia de selectinas siendo su principal función es la adhesión, ya que promueve el rodamiento y detención de los leucocitos.

La P-Selectina tiene como receptor a la PSGL-1, esta unión hace posible la interacción de leucocitos con las plaquetas activadas y el endotelio. Los monocitos, neutrófilos, eosinófilos y células hematopoyéticas progenitoras expresan PSGL-1. Además, la comunicación celular llevada a cabo gracias P-Selectina con los leucocitos es un importante mediador de la formación de agregados de plaquetas y leucocitos, promoviendo así la liberación de citocinas proinflamatorias(47).

La P-selectina está almacenada en los cuerpos de la Weibel Palade de las células endoteliales, y en los  $\alpha$ -gránulos de las plaquetas. Sin embargo, las plaquetas son la mayor fuente de P-selectina soluble en circulación, esta es transportada de sus gránulos a su superficie después de su activación(93).

Su función fisiológica es mediar la adhesión leucocitaria al endotelio activada durante la inflamación aguda. También se le considera como un biomarcador de activación plaquetaria, además de que se ha demostrado que tiene un papel importante en la inflamación vascular (94).

Por otro lado, se ha podido demostrar que la P-selectina desempeña un papel antiinflamatorio al inhibir la adhesión de neutrófilos activados a las células endoteliales (95).

## **LC40s**

El complejo CD40/CD40 ligando, también conocido como CD145 o gp 39, es parte de la familia del factor de necrosis tumoral. Es un complejo que se compone de dos partes, una proteína transmembranal estructural y una molécula soluble de adherencia tisular. La porción soluble de este complejo es liberada a la circulación posterior a la activación celular. El ligando CD40 soluble está expresado en células como linfocitos y plaquetas activadas. (96).

El complejo CD40L es una glicoproteína de 16.3 kD que contiene 149 aminoácidos que comprende el receptor de unión del dominio TNF del ligando CD40, es una proteína integral de membrana que pertenece a la superfamilia del receptor TNF. Este receptor se encuentra en células como los linfocitos B, macrófagos, células dentríticas y en células presentadoras de antígeno y células endoteliales, fibroblastos y células de músculo liso y epiteliales(97)

Las plaquetas son conocidas como la fuente principal de sCD40L (95% es de origen plaquetario), la expresión del CD40 está inducida por estímulos inflamatorios como la IL1, IL3, IL4, TNF  $\alpha$ , e IFN  $\gamma$ . Esta forma soluble interacciona con la integrina Mac-1, presentes en el sistema monocito-macrófago, induciendo la migración y la adhesión de células inflamatorias. Además, el sCD40L también se une a los receptores de la GP IIb/IIIa, induciendo su activación (98), una de sus funciones fisiológicas es la inducción de las células vasculares a expresar E-Selectina y P-Selectina, además promover la liberación de IL-6, lo que ayuda al proceso de inflamación. Se ha demostrado que la expresión de plaquetas de CD40L afecta en células dentríticas como a linfocitos B y T sugiriendo un nexo entre la inmunidad innata y adaptativa (45). Además la interacción del ligando CD40 y su receptor CD40, en los linfocitos B, es necesario para la activación, diferenciación y

proliferación de las células B y en la producción de anticuerpos, así como en el cambio de isotipo de las inmunoglobulinas y formación de células B de memoria (99)(100).

### **B-Tromboglobulina**

La beta tromboglobulina es liberada de los gránulos alfa de las plaquetas activadas, ésta es una quimiocina específica de las plaquetas. Es un tetrámero de peso molecular de 8.8 kDa y presenta una fuerte homología estructural con PF4, 42 de los 81 aminoácidos son idénticos. Se sugiere que el origen de la B-TG es un producto de proteólisis de la LA-PF4 o PF4 de baja afinidad (la única diferencia son 4 últimos aminoácidos que desaparecen en B-TG), y que es convertido a B-TG por una proteasa neutra, plasmina o tripsina (101).

B-tromboglobulina en conjunto con PF4 ha sido propuesto como un modelo para estudiar la activación plaquetaria, debido a ser biomarcadores exclusivos de origen plaquetario (46)(101)(102), además se demostró los niveles significativamente altos de B-Tg y PF4 en pacientes con enfermedades inflamatorias. (103).

B-TG y PF4 son mediadores con capacidad para activar eosinófilos, incrementar la expresión de receptores de Fc-IgG y Fc-IgE, y estimular a los basófilos para liberar histamina (104). PF4 y B-TG, al ser quimiocinas, son citocinas proinflamatorias, las cuales son responsables de la acumulación y activación de los leucocitos en el sitio de la inflamación(46).

# FUNDAMENTO DE TÉCNICAS

## PCR-RT

PCR- RT son las siglas que significan Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa en tiempo real.

Para realizar esta técnica es necesario obtener el material genético para lo cual se aíslan los ácidos nucleídos. Debido a que al material genético del virus es RNA, es necesaria una retrotranscriptasa para obtener el DNA complementario que es estable a las temperaturas requeridas en el PCR. Se requiere una mezcla de reactivos que contenga: retrotranscriptasa inversa, Dntp necesarios para las síntesis y elongación del ADNc como sustratos, dos oligonucleótidos son secuencias complementarias a los dos extremos 3' de la región diana y que actúen como cebadores para la replicación, magnesio como coenzima de la polimerasa, sonda o fluorocromo, inhibidor de RNAsas y DNA polimerasa, A través de un número determinado de ciclos de tiempo y temperatura en el termociclador se lleva a cabo los siguientes pasos:

Desnaturalización del DNA para dar moléculas monocatenarias.  
Hibridación de la molécula monocatenaria con un oligonucleótido de la secuencia de interés.

Replicación (elongación, polimerización, o extensión del cebador) de la molécula monocatenaria mediante una DNA polimerasa que emplea el oligonucleótido como cebador.

Mediante la aplicación en forma cíclica de estos tres procesos se consigue un número muy alto de copias del fragmento de ácido nucleído.

En el PCR de tiempo real o cuantitativo se utiliza un fluorocromo que se une al DNA bicatenario incrementando la fluorescencia, ésta es cuantificada al finalizar cada ciclo de amplificación como un índice del número de copias conseguidas.

## ELISA

El método de ELISA es el acrónimo del inglés: “Enzyme-linked immunosorbent assay”, traducido como ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas, es un inmunoensayo para identificar y cuantificar diversas sustancias como anticuerpos, hormonas, proteínas, factores de crecimiento, presencia y tipo de virus o bacterias en diversas muestras como suero, plasma y medio de cultivo celular, entre otros. Debido a que es un método sencillo de realizar y con buena sensibilidad y especificidad, la hace un método adecuado para la cuantificación de los biomarcadores a analizar en este estudio.

Para este método se utilizan unas placas de propileno, o poliestireno que es un material que permite una mejor unión a proteínas.

Según la forma de detección del antígeno, existen 4 variables de ELISA:

**Tipo sándwich:** se encuentra un primer anticuerpo en la placa, después se añade la muestra con el antígeno de interés que es reconocido por el primer anticuerpo, se le añade un segundo anticuerpo que reconoce al antígeno también haciendo un “sándwich”. Se añade una enzima que reaccionará con el sustrato específico.

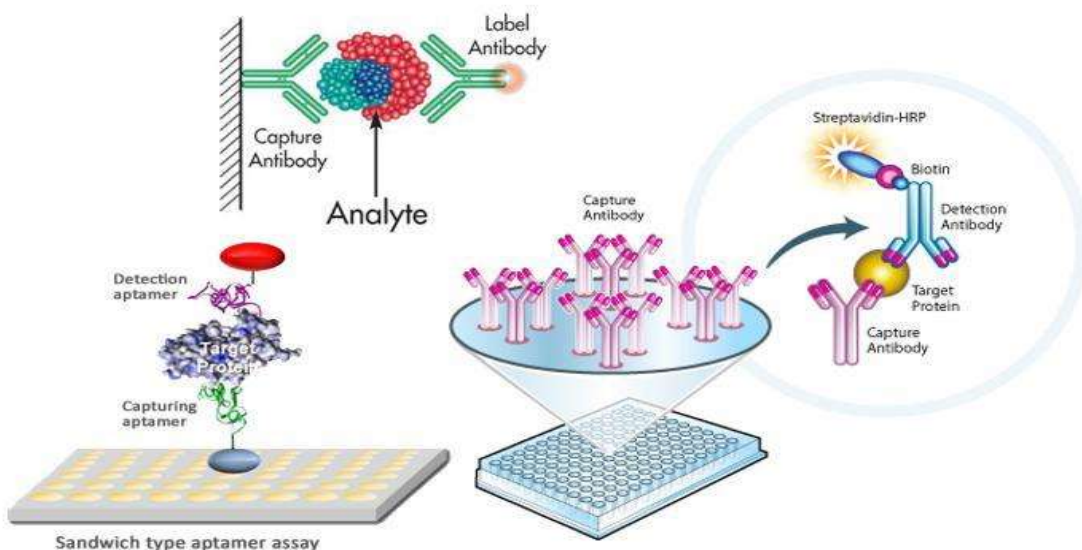


Figura 13: ELISA tipo sándwich (105)

**Directo:** la muestra con el antígeno de interés se coloca en los pocillos de la placa, con un anticuerpo específico para el antígeno que está marcado y se hace la detección directa del antígeno.

**Indirecto:** requiere dos anticuerpos, el primer anticuerpo reconoce el antígeno unido a la placa y el segundo anticuerpo reconoce al anticuerpo primario, el anticuerpo secundario se une a la enzima que reconoce al sustrato.

**Competitiva:** las placas se cubren con una concentración conocida del antígeno a detectar, se añade la solución problema donde se encuentra el antígeno, éste competirá con el antígeno pegado a la placa y competirá por la unión al anticuerpo. Después de una serie de lavados, el antígeno en solución pegado al anticuerpo se eliminará y será detectado únicamente el que quede unido en la placa.

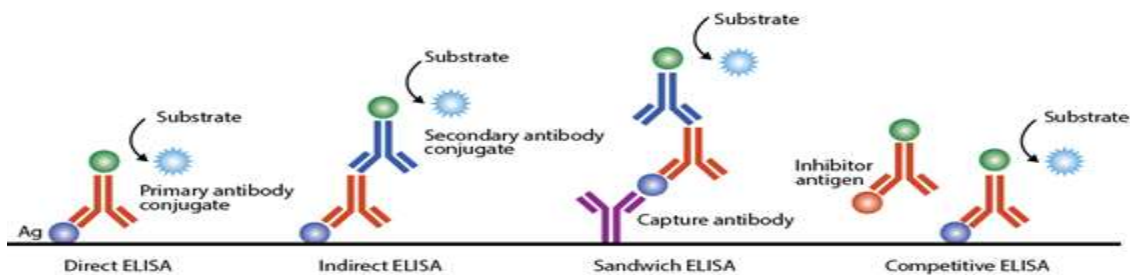


Figura 14. Tipos de ELISA (106)

Después de seguir el procedimiento de la ELISA, se obtendrá un cambio de coloración debido a una reacción colorimétrica donde siguiendo la Ley de Lambert-Beer, la absorbancia o cantidad de luz absorbida será directamente proporcional a la concentración del analito a estudiar. Esta absorbancia será cuantificada por medio de un Espectrofotómetro, donde de forma directa por el equipo o por medio de cálculos con la ecuación de la recta ( $y=mx+b$ ) se obtendrá la concentración del analito buscado en la muestra, comparando con una curva de calibración de estándares con concentraciones conocidas.

$$Y=mx+b$$

Donde:  
 y=absorbancia  
 m=pendiente de la recta  
 x=concentración buscada  
 b=intersección con el eje de la "y"

## **JUSTIFICACIÓN**

El virus Zika es un importante problema de Salud Pública debido a su asociación a complicaciones neurológicas graves como el Síndrome de Guillain-Barré y el Síndrome Congénito asociado a Zika. El estudio de estos biomarcadores nos ayudaría a conocer parte de la respuesta inmune, remarcando el hecho de que hay muy pocos estudios que describan el comportamiento de estos biomarcadores en Zika. Por otra parte el papel de las plaquetas aún no ha sido estudiado en infección por virus Zika

Es importante describir las diferencias en los biomarcadores que se elevan durante la infección Zika y los que se elevan en otros casos de fiebre aguda, para obtener información acerca del comportamiento clínico.

Este estudio ayudaría a la identificación de biomarcadores que pudieran constituir posibles blancos terapéuticos.

## **HIPÓTESIS**

Las concentraciones plasmáticas de biomarcadores de activación plaquetaria (VPM, PF-4, B- tromboglobulina, CD40Ls y P- selectina) y daño endotelial (FvW) están incrementados en pacientes con infección por virus Zika respecto a los pacientes de fiebre de inicio agudo y el grupo control, y correlacionan con las concentraciones de biomarcadores de inflamación (IFN- $\gamma$ , IL-6 y TNF $\alpha$  e IL10).

## **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar si existe activación plaquetaria en la infección por virus Zika a través de la cuantificación de biomarcadores plaquetarios y daño endotelial.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Analizar signos y síntomas en la infección por virus Zika.

Cuantificar biomarcadores de activación plaquetaria (P- selectina, B-tromboglobulina, CD40L y PF4), biomarcadores inflamatorios (IFN  $\gamma$ , TNF  $\alpha$ , IL-6, IL10) y de daño

endotelial (FvW) en pacientes con infección por virus Zika, fiebre de inicio agudo y controles sanos.

Analizar si existen diferencias en las concentraciones de los biomarcadores plaquetarios, inflamatorios y vasculares entre los grupos.

Analizar correlaciones entre los parámetros estudiados en los tres grupos de estudio.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Tipo y clasificación de estudio: Estudio observacional, comparativo, prospectivo y transversal.

Periodo de estudio: junio del 2017 al enero del 2018

Universo de estudio:

Pacientes con infección por virus Zika

Pacientes con fiebre de inicio agudo

Sujetos aptos para donación sanguínea como grupo control

Unidades de análisis:

Pacientes: Clínicas del IMSS del servicio de Epidemiología o Urgencias: UMF 78, UMF 27, UMF 31, HG/ZMF 12 y Centro de Salud Las Guacamayas en Lázaro Cárdenas, Michoacán

Grupo Control: Hospital General Regional N1 del IMSS en la Unidad de Transfusión Sanguínea de Morelia, Michoacán.

**Criterios de inclusión:**

Pacientes tanto mayores como menores de edad (previa autorización de padres o tutor) que firmaron el consentimiento informado.

Pacientes con no más de 5 días de evolución con o sin exantema con sospecha de infección de virus Zika o de otra arbovirosis, y/o que presentaron fiebre aguda previa valoración del médico tratante.

**Criterios de eliminación:**

Muestras Dengue y/o Chikungunya positivas

Muestras de pacientes Zika negativos que no hayan presentado fiebre

**Criterios de exclusión:**

Muestras en cantidad insuficiente, hemolizada, lipémica o contaminadas.

Muestras en las que no se haya preservado correctamente la red de frío.

**Tamaño de muestra:**

Se consideró un tamaño de muestra conveniente al número total de pacientes captados en el periodo de muestreo comprendido en el periodo de 19 junio a 25 de agosto del 2017 en Lázaro Cárdenas, Michoacán.

**Definición del grupo control**

Los sujetos clínicamente sanos que formaron al grupo control fueron sujetos que fueron considerados aptos para la donación sanguínea en el Hospital General Regional N1 del IMSS en la Unidad de Transfusión Sanguínea de Morelia, Michoacán. A este grupo se les realizó Biometría Hemática completa, no registraron vacunas en el último mes y obtuvieron resultados negativos para las pruebas serológicas de VHB, VHC, VIH, sífilis (*Treponema pallidum*) y de la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*). Para integrar el grupo control se pareó con el grupo de pacientes con edad y sexo similares.

### **Definición del grupo: pacientes con sospecha de Infección por Zika:**

Pacientes con no más de 5 días de evolución con sospecha de infección Zika que presentaran exantema y cumplieran con la definición operacional del InDRE, o que presentaran exantema y un cuadro sospechoso de infección por Dengue o Chikungunya de acuerdo al Servicio de Epidemiología.

### **Definición del grupo: Pacientes con fiebre aguda**

Se consideró en este grupo a todos los pacientes que acudieron al Servicio de Epidemiología en las clínicas de Lázaro Michoacán que presentaron fiebre aguda en un lapso no mayor a 5 días antes de la toma de muestra o que presentaron fiebre en el momento de la consulta, previa valoración del médico tratante. Considerando el signo fiebre, a la temperatura axilar mayor o igual a 38 °C medida con termómetro de mercurio.

Aparte de presentar fiebre estos pacientes fueron examinados por el médico tratante del Servicio de Epidemiología y de acuerdo a su cuadro clínico se sospechaba de una infección por arbovirus (Dengue o Chikungunya).

### **Técnicas y procedimientos**

A los pacientes y sujetos del grupo control, previa autorización para participar en el proyecto (ANEXO 1), se les realizó una toma de muestra sanguínea por venopunción en el antebrazo.

A los pacientes que formaron parte del grupo paciente con sospecha de infección por Zika y paciente con fiebre aguda se les realizó el Estudio Epidemiológico de caso de enfermedades Transmitidas por Vector 2016, del Sistema Nacional de Salud, ANEXO 2.

Se obtuvieron 5.0 mL de muestra almacenada en tubo con gel separador, 2.7 mL de muestra en tubos con Citrato de Sodio al 3.2% y 4.0 mL de muestra colectada en tubos con EDTA-K2

De la muestra obtenida de los tubos con EDTA-K2 se les realizó la Biometría Hemática.

Para obtener suero y plasma se usaron tubos con gel separador y citrato de sodio al 3.2%, que fueron centrifugados a 3500 RPM durante 15 minutos.

El suero y plasma fueron alicuotados en tubos Eppendorf estériles y libres de RNAsas, y se mantuvieron en red fría temporal a no más de 5 °C, hasta que fueron guardados en el Ultracongelador a -70 °C.

En el caso de las muestras colectadas en Lázaro Cárdenas Michoacán, éstas fueron transportadas a Morelia, Michoacán en el Sistema de Triple Embalaje para garantizar la red de frío y el transporte idóneo de muestras biológico-infecciosas.

Posteriormente las muestras fueron almacenadas en el Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular en Ultracongelador a -70 °C. hasta su posterior análisis.

### **RT-PCR**

De las muestras obtenidas en Lázaro Cárdenas Michoacán, una alícuota de suero de cada paciente fue transportada en red frío con el Sistema de Triple Embalaje al Instituto de Investigaciones Médico-Biológicas de la Universidad de Veracruz, donde a las muestras se les realizó un RT-PCR en tiempo real para la identificación del ARN viral en una prueba Triplex para diagnóstico simultáneo de Dengue, Zika y Chikunkunya.

Cabe remarcar que el RT-PCR fue realizado de acuerdo a los lineamientos y estándares establecidos por el InDRE "Dr. Manuel Martínez Báez".

El kit utilizado para el diagnóstico fue de la marca Primerdesing genesig®

## ELISAS

Las ELISAS fueron realizadas de acuerdo al procedimiento establecido por el proveedor utilizando la muestra que a continuación se indica:

BIOMARCADOR	PROVEEDOR	MUESTRA
TNF-a	Invitrogen ®,	Suero
IL 6	Invitrogen ®	Suero
IFN $\gamma$	INVITROGEN® by Thermo Fischer scientific	Suero
IL10	INVITROGEN ®	Suero
FvW	Thermo Scientific ®	Plasma
B-TG	Sunlog Biotech CO ®., LTD	Plasma
PF4	Thermo scientific ®	Plasma
LCD40s	Affymetrix eBioscience ®	Suero
P-selectina	Affymetrix eBioscience ®	Plasma

## Análisis Estadístico

Se mostraron las variables numéricas con medias o medianas y desviaciones estándar o rangos. A las variables nominales se les reportó con números y porcentajes. Se les realizó también estadística descriptiva con frecuencias absolutas.

A las variables cuantitativas se les realizó la prueba de Normalidad de Kolmogorov - Smirnov para determinar si los datos eran Paramétricos o No paramétricos.

A los datos paramétricos se les analizó para la comparación entre grupos con la prueba ANOVA y las comparaciones intragrupos con Post-Hoc Tukey. Las correlaciones fueron realizadas con la prueba Pearson.

A los datos no paramétricos se les analizó para la comparación entre grupos con la prueba de Kruskal-Wallis y las comparaciones intragrupos con U de Mann Whitney. Las correlaciones fueron realizadas con Rho de Spearman.

Se utilizó el paquete estadístico SPSS ® versión 15.0 y se consideró como significativa la  $p < 0.05$ . Para graficar se utilizó GraphPrism 6.0 y Microsoft Excel 15.32.

### **Aspectos Bioéticos:**

Este proyecto fue desarrollado de acuerdo a los principios de Helsinki (Finlandia 1964 y también contempla lo pactado en el Código de Nüremberg (Alemania 1947).

De acuerdo a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud de México (artículo 17, Título Segundo, capítulo I), este estudio es considerado de riesgo mínimo debido a que a los pacientes sólo se les tomaron muestras sanguíneas para exámenes de laboratorio y se les realizaron encuestas a los pacientes).

Se tiene también el registro y aprobación ante el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” (ANEXO 3).y el Comité de Bioética del Seguro Social (ANEXO 4), así como también por parte de Secretaría de Salud (Anexo 5).

Los participantes fueron invitados a formar parte del proyecto y al estar de acuerdo se procedió a firmar el consentimiento informado (ANEXO 1).

Los datos recolectados de los pacientes serán confidenciales y su información será usada exclusivamente con fines de investigación

.

### **RESULTADOS:**

Resultados del muestreo:

Del muestreo de Lázaro Cárdenas, Michoacán se obtuvo un total de 96 muestras de pacientes sospechosos a arbovirosis a las que se les realizó RT-PCR.

Del RT-PCR Triplex para la identificación de Dengue, Zika y Chikungunya que se les realizó a las muestras, 12 resultaron positivas para Zika, dentro de estas se encontraron 2 coinfecciones de Zika/Chikungunya, 3 positivas a Dengue y 5 positivas a Chikungunya.

Por lo tanto de las 96 muestras, se excluyeron 3 muestras por cantidad de muestra insuficiente y se eliminaron 17 muestras (9 por ser muestras Zika negativas sin haber presentado fiebre y 8 por infección Dengue o Chikungunya). Finalmente se obtuvo un total de 76 muestras de pacientes.

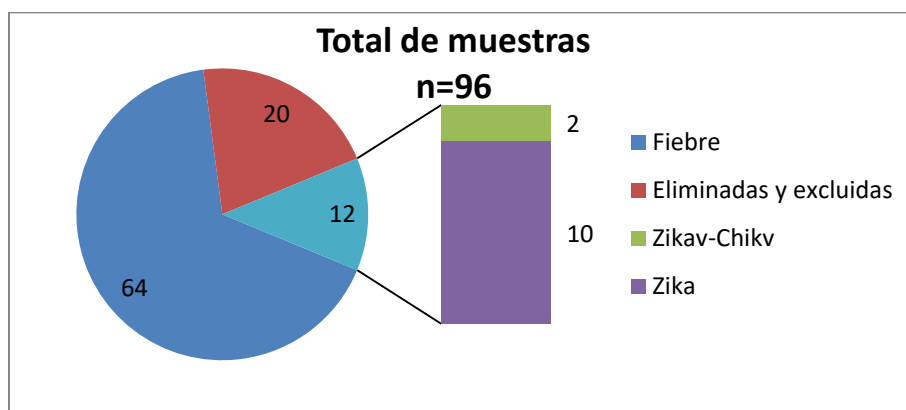


Figura 15. Resultado del total de muestras

#### Datos demográficos y manejo de los pacientes

De los 12 pacientes positivos a Zika, 3 correspondían al género masculino y 9 al femenino, la media de edad fue de 26.33 con una D.E. de 14.92. El rango de edad fue de mínimo 2 años y máximo de 54 años. El manejo de los todos los pacientes con Zika fue ambulatorio.

De los 64 pacientes con fiebre aguda, 38 correspondían al género masculino y 26 al femenino, la media de edad fue de 30.16 con una D.E. de 18.54. El rango de edad fue de mínimo 2 años y máximo de 80 años. El manejo de los pacientes incluyó 60 ambulatorios y 4 hospitalizados.

Tabla 7. Características demográficas de los pacientes y manejo de los pacientes

Variable	Pacientes con Zika	Pacientes con Fiebre
Número de pacientes	12 ( 2 ZIKAV-CHIKV)	64
Masculino	3	38
Femenino	9	26
Edad (años)	26.33 ± 14.92 *	30.16 ± 18.54 *
Rango de Edad (años)	2-54	2-80
Manejo de paciente	Ambulatorio: 12	Ambulatorio: 60

\*Media y Desviación Estándar.

### Biometría Hemática

De acuerdo a los datos obtenidos en la biometría hemática, la mayoría de los datos de los pacientes estuvieron dentro del rango esperado. Sin embargo de acuerdo al rango esperado en los pacientes con Zika, la media del Volumen Plaquetario Medio está ligeramente incrementado del rango de lo normal (11.17 fL) y se observa una ligera neutrofilia (73.32% de neutrófilos). También se realizó análisis de los datos de la biometría entre grupos y los resultados se muestran a continuación:

Tabla 8: Biometría hemática en pacientes con Zika, fiebre y sujetos sanos

Valores esperados	Pacientes con Zika	Pacientes con fiebre	Sujetos sanos	Valor de p
<b>Plaquetas</b> 150-450 miles/uL	256.82 ± 79.99	229.53 ± 70.58	239.72 ± 59.63	NS
<b>VPM</b> 7-11 fL	<b>11.17 ± 0.91 §</b>	<b>10.97 ± 0.98 ¥</b>	9.36 ± 1.43	0.0001 λ
<b>Leucocitos</b> 5-10 miles/uL	10.11 ± 6.30	7.85 ± 3.51	6.93 ± 1.35	NS
<b>Linfocitos</b> 20-40%	19.91 ± 12.00 §	23.42 ± 14.55 ¥	29.94 ± 5.60	0.0001 λ
<b>Monocitos</b> 2-12 %	<b>5.84 ± 2.20 § €</b>	9.17 ± 3.28	9.11 ± 2.14	0.006 λ
<b>Neutrófilos</b> 40-70 %	<b>73.32 ± 14.06 §</b>	64.38 ± 15.85 ¥	58.80 ± 7.92	0.019 ²
<b>Eosinófilos</b> 0-5 %	0.86 ± 0.64 §	2.11 ± 3.56 ¥	1.74 ± 1.02	0.029 λ
<b>Basófilos</b> 0-1%	0.23 ± 0.14 §	0.33 ± 0.23 ¥	0.56 ± 0.25	0.0001 λ

NS No Significativo

¥Fiebre vs sanos §Zika vs sanos € Zika vs fiebre

Se reporta Media y Desviación estándar

VPM: volumen plaquetario medio

p<0.05 λ Prueba de Kuskawal Wallis con U de Mann Whitney ² Prueba de ANOVA con Tukey

### Signos y síntomas más comunes en fiebre aguda y Zika

Las manifestaciones clínicas que presentaron los pacientes con Zika y fiebre aguda se describen a en seguida. Las primeras 8 manifestaciones clínicas corresponden a los signos y síntomas de la definición operacional de Zika.

Tabla 9. Signos y síntomas en pacientes con Zika y fiebre aguda

<b>SIGNO/SÍNTOMA</b>	<b>ZIKA</b> n =12(%)	<b>FIEBRE</b> n=64 (%)
<b>Exantema</b>	8 (66.7)	13 (20.3)
<b>Fiebre</b>	9 (75)	64 (100)
<b>Cefalea</b>	7 (58.3)	60 (93.8)
<b>Conjuntivitis</b>	4 (33.3)	16 (25)
<b>Mialgias</b>	5 (41.7)	52(81.3)
<b>Artralgias</b>	6 (50)	53 (82.8)
<b>Prurito</b>	2 (16.7)	11 (17.2)
<b>Dolor retroocular</b>	7 (58.3)	37 (57.8)
<b>Artritis</b>	2 (16.7)	3 (4.7)
<b>Dolor de espalda</b>	5 (41.7)	34 (53.1)
<b>Vómito</b>	3 (25)	18 (28.1)
<b>Náuseas</b>	6 (50)	46 (71.9)
<b>Diaforesis</b>	0 (0)	11 (17.2)
<b>Escalofríos</b>	4 (33.3)	38 (59.4)
<b>Fotofobia</b>	3 (25)	24 (37.5)
<b>Dolor abdominal</b>	4 (33.3)	29 (45.3)
<b>Diarrea</b>	1 (8.3)	12 (18.8)
<b>Congestión nasal</b>	3 (25)	23 (35.9)
<b>Tos</b>	3 (25)	26 (40.6)
<b>Faringitis</b>	4 (40.6)	32 (50)
<b>Alteración del gusto</b>	3 (25)	16 (25)
<b>Adenomegalias</b>	0 (0)	6 (9.4)
<b>Rigidez de nuca</b>	1 (8.3)	1 (1.6)
<b>Debilidad muscular</b>	1 (8.3)	15 (23.4)
<b>Otitis</b>	1 (8.3)	0 (0)

<b>Petequias</b>	1 (8.3)	1 (1.6)
------------------	---------	---------

A continuación se muestran los signos y síntomas más frecuentes en cifras porcentuales de los pacientes con infección por virus Zika y pacientes con fiebre de inicio agudo:

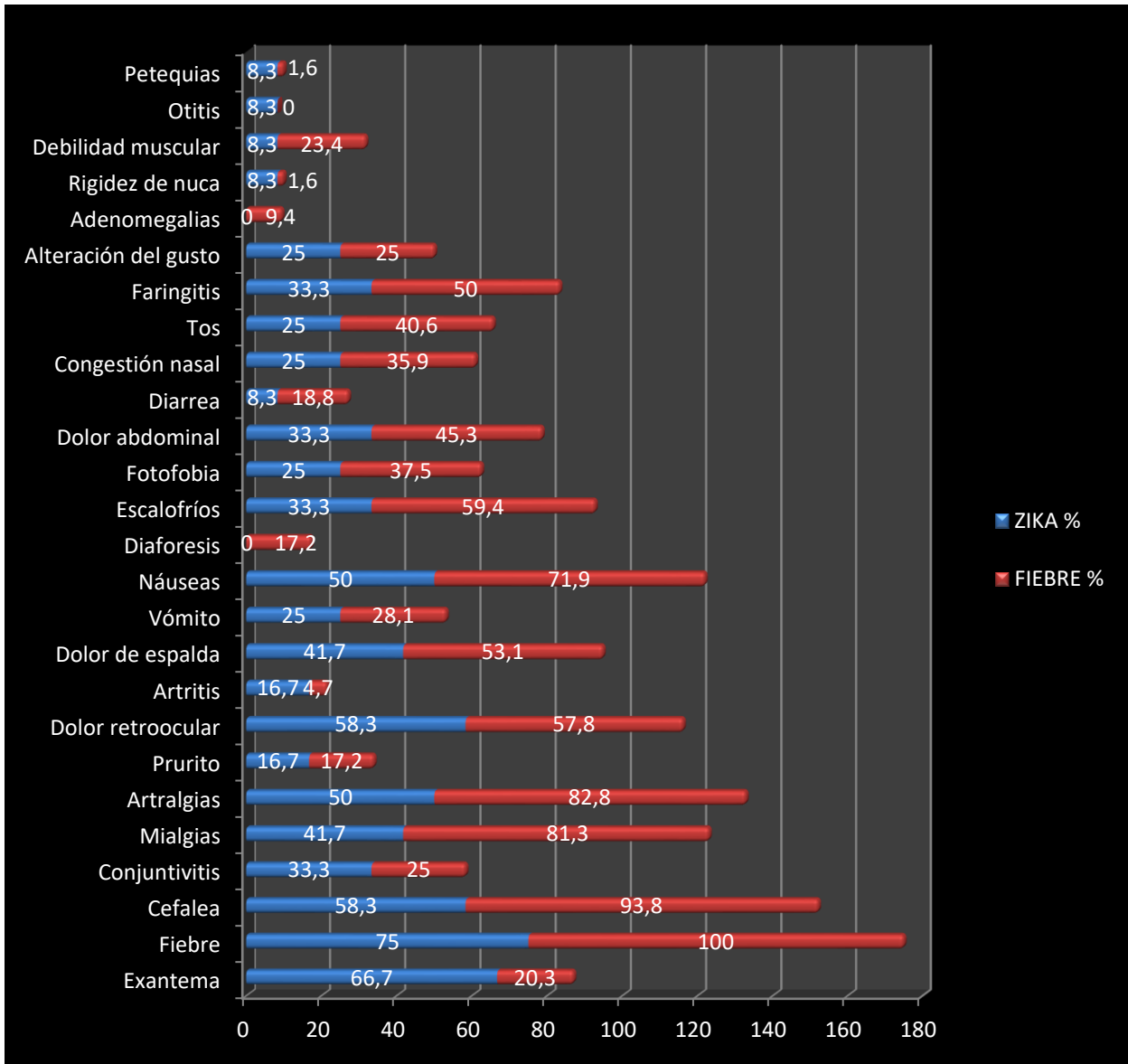


Figura 16. Signos y síntomas más frecuentes en porcentaje de pacientes con fiebre aguda y Zika

La descripción clínica de las manifestaciones presentadas en los pacientes que resultaron Zika positivos se muestra a continuación:

Tabla 10. Signos y síntomas de los pacientes Zika positivos

SIGNO/SINTOMA	NÚMERO DE PACIENTE ZIKA POSITIVO											
	1	2	3	4	5	6	7*	8*	9	10	11	12
<b>Exantema</b>	■	■	■	■	■	■	■				■	
<b>Fiebre</b>			■	■		■	■	■	■	■	■	■
<b>Cefalea</b>			■	■				■	■	■	■	■
<b>Conjuntivitis</b>		■	■	■							■	
<b>Artralgias</b>				■	■				■	■	■	■
<b>Mialgias</b>						■	■		■	■	■	
<b>Prurito</b>					■						■	
<b>Dolor retroocular</b>			■	■			■	■		■	■	■
Tos	■							■			■	
Alteraciones del gusto	■										■	■
Congestión nasal	■									■	■	
Náuseas				■			■	■		■	■	■
Dolor abdominal				■			■	■		■	■	■
Dolor de espalda							■	■		■	■	■
Vómito									■		■	■
Fotofobia							■	■		■	■	■
Petequias							■	■		■	■	■
Escalofríos								■		■	■	■
Artritis									■	■	■	
Faringitis	■									■	■	■
Diarrea											■	■
Otitis											■	■
Rigidez de nuca											■	■
Debilidad muscular											■	■

\*Coinfección Zika/Chikungunya

Signo o síntoma presentado marcado con rojo

Las manifestaciones clínicas de la definición operacional de Zika están con negritas

En estas fotografías tomadas durante el muestreo se evidencian dos signos claves de la infección del virus Zika, el exantema y la conjuntivitis no purulenta con hiperemia.

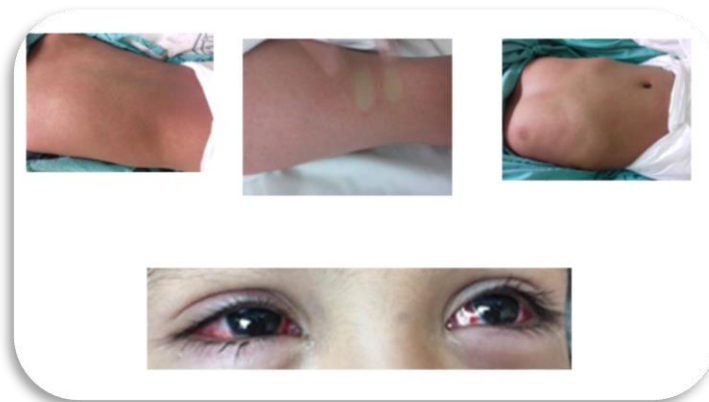


Figura 17. Exantema y conjuntivitis de pacientes con sospecha de Zika

### Biomarcadores plaquetarios y de inflamación

A continuación se reportan los datos obtenidos de la cuantificación de biomarcadores de activación plaquetaria, daño endotelial e inflamación en los pacientes con infección Zika y pacientes con fiebre aguda y el grupo de sujetos sanos

Biomarcador	Pacientes con Zika	Pacientes con fiebre	Sujetos sanos	Valor de p
<b>IL-10</b> pg/mL	7.89 (1.86-45.97)	8.75 (0.72 -349.90)	12.85 ( 1.11-30.89)	0.482
<b>IFN <math>\gamma</math></b> pg/mL	39.38 (15.92 - 118.50)	39.36 (0 - 325.15 )	27.08 (4.38-96.69)	0.196
<b>IL-6</b> pg/mL	4.00 (0.00 - 101.60)	6.95 § (0 - 350.40)	0.50 λ (0.00-12.70)	0.0001*
<b>TNF <math>\alpha</math></b> pg/mL	8.65 ¥ (3.60 - 40.40)	16.85 § (3.70 - 58.70)	9.70 (4.10 - 20.10)	0.0001*
<b>B-TG</b> ng/mL	5.49 ¥ (5.18-114.12)	5.29 (0.00 - 132.62)	5.33 λ (5.09 - 73.71)	0.043*
<b>PF4</b> ng/mL	18.47 (11.34-24.93)	17.56 (0.00 - 27.52)	20.45 (0.00 - 25.11 )	0.758
<b>sCD40L</b> ng/mL	3.75 (0.50-10.00)	3.50 (0.00- 17.00)	5.00 (0.00-15.50)	0.059
<b>P-sel</b> ng/mL	226.65 (74.90-449.50)	259.05 (0.00 - 660.30)	214.40 (1.30- 634.60)	0.468
<b>FvW</b> ng/mL	171.50 (8.00-403.00)	137.50 § (0.00 - 400.00)	43.00 λ (0.00-367)	0.001*

IL, Interleucina. IFN  $\gamma$ , Interferón gamma. TNF  $\alpha$ , Factor de Necrosis Tumoral alpha. BTG, Beta-tromboglobulina . PF4, Factor Plaquetario 4. sCD40L, Ligando CD40 soluble. P-sel, P-Selectina. FvW, Factor Von Willebrand.

Se muestran medianas y rangos

\*  $p < 0.05$  Prueba de Kuskawal Wallis con U de Mann Whitney

¥ Zika vs Fiebre § Fiebre vs Sanos λ Sanos vs Zika

Tabla 11. Biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación

En las siguientes gráficas se reportan las diferencias significativas encontradas entre grupos con la prueba de U de Mann Whitney:

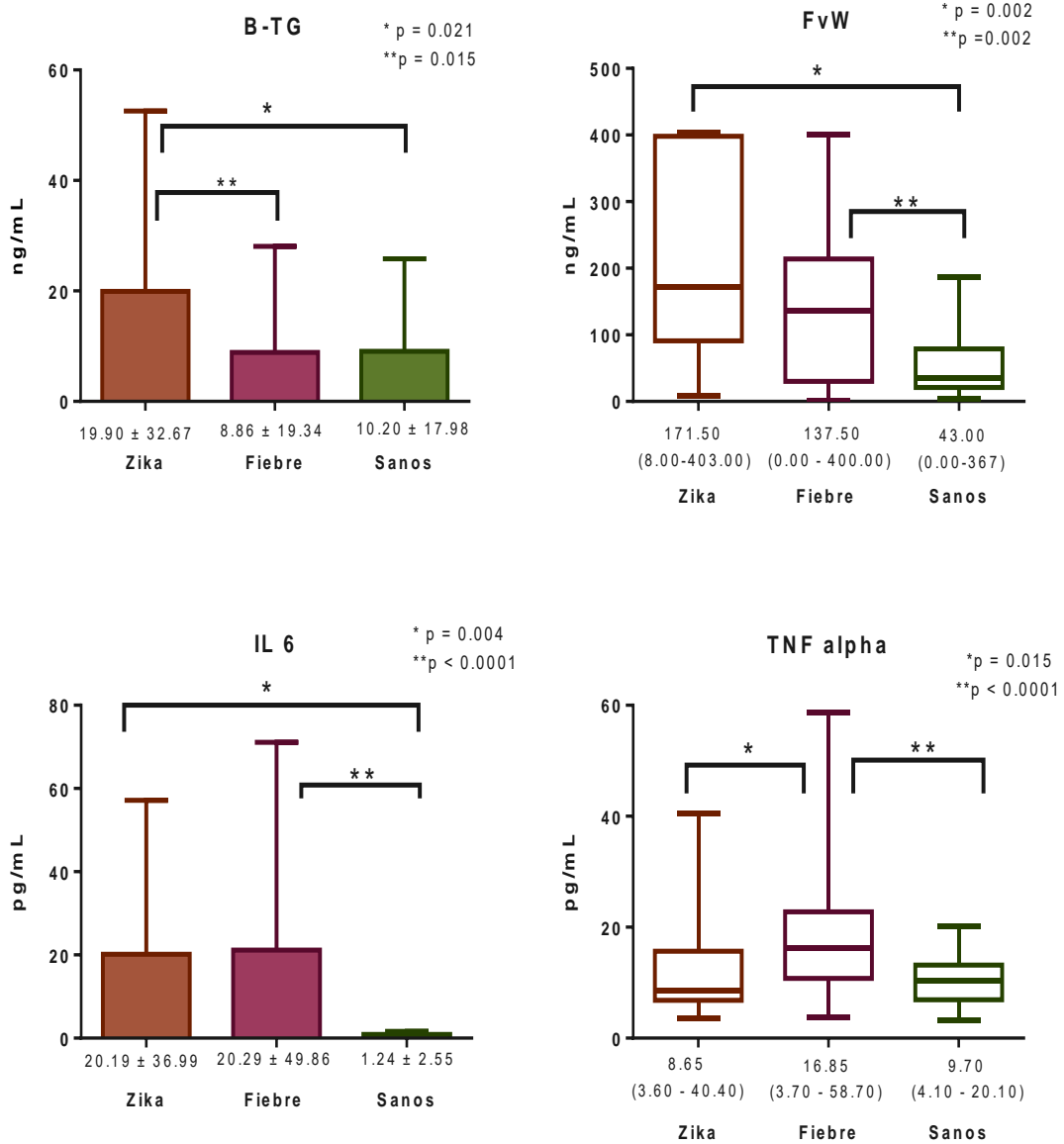
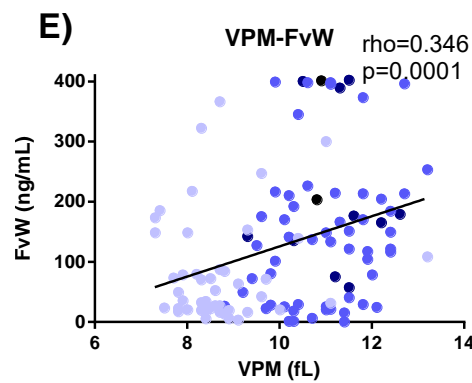
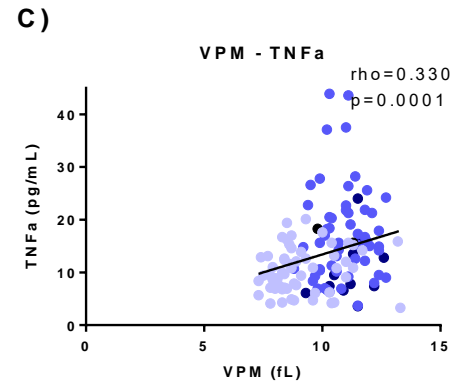
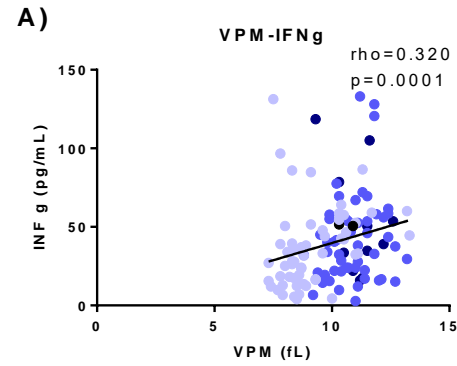


Figura 18. Biomarcadores de activación plaquetaria e inflamación

Las correlaciones que se muestran a continuación son las que resultaron significativas de acuerdo a la prueba Rho Spearman, donde se analizaron los tres grupos de estudio. En este primer gráfico se representan las correlaciones del Volumen Plaquetario Medio:



● Pacientes con Zika ● Pacientes con fiebre ● Grupo control

Figura 19. Correlaciones de VPM con IFN  $\gamma$ , IL6, TNF  $\alpha$ , IL10 y FvW en los tres grupos de estudio

También obtuvimos correlaciones significativas entre los biomarcadores plaquetarios y daño endotelial con los biomarcadores de inflamación:

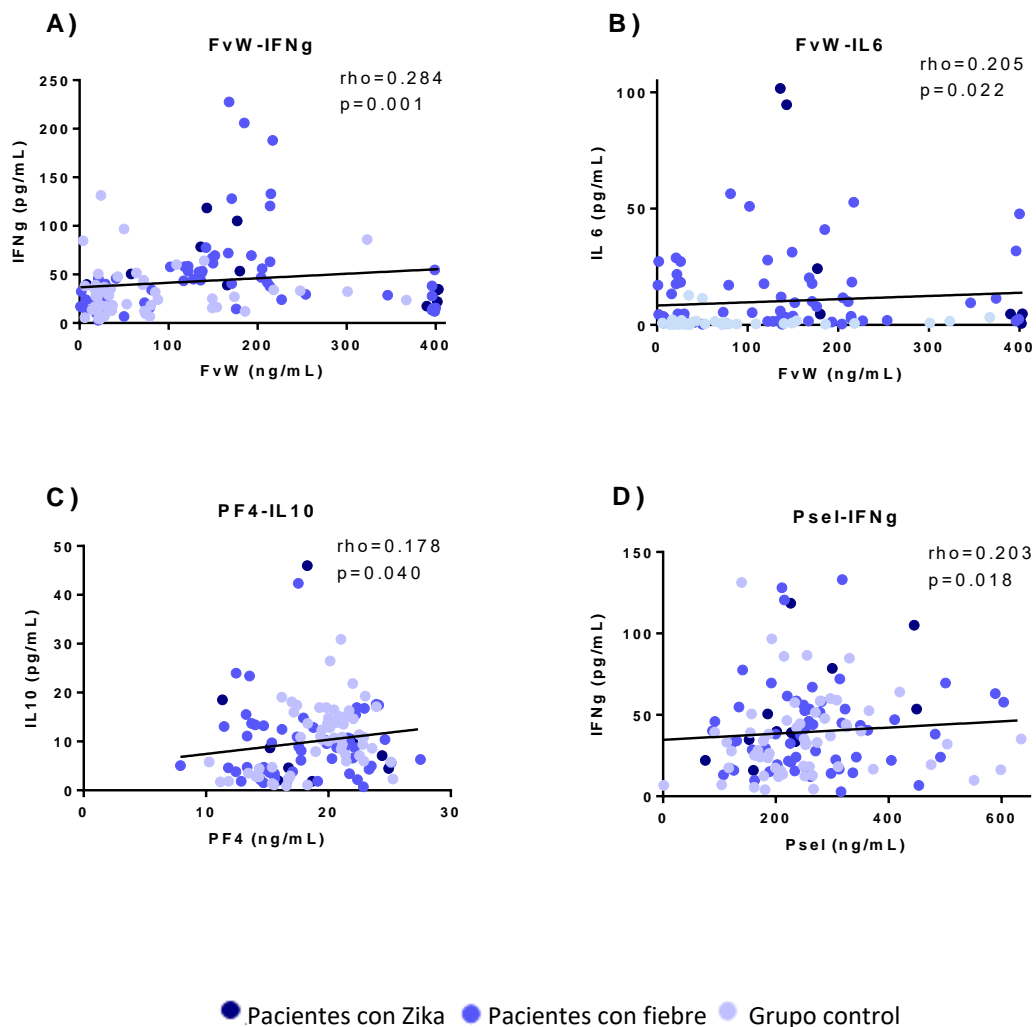


Figura 20. Correlación de biomarcadores plaquetarios/daño endotelial con biomarcadores inflamatorios en los tres grupos de estudio.

Adicionalmente se encontraron otras correlaciones entre biomarcadores plaquetarios, de daño endotelial e inflamatorios que se asociaban con otros parámetros (No mostrados en las Figuras anteriores), por lo que a continuación se presenta en la siguiente tabla un resumen de todas las correlaciones significativas encontradas en los grupos de estudio:

Tabla 12. Resumen de correlaciones de biomarcadores

Tipo de correlación	Correlación	Valor de rho	Valor de p
Plaquetario-inflamatorio	VPM-IFN $\gamma$	0.320	0.0001
	VPM-IL6	0.329	0.0001
	VPM-TNF $\alpha$	0.330	0.0001
	VPM-IL10	-0.426	0.0001
	PF4-IL10	0.178	0.040
	Psel-IFN $\gamma$	0.203	0.018
Plaquetario-endotelial	VPM-FvW	0.346	0.0001
Endotelial-Inflamatorio	FvW-IFN $\gamma$	0.284	0.001
	FvW-IL6	0.205	0.022
Inflamatorio-inflamatorio	IL10-IL6	0.190	0.028
	IFN $\gamma$ -IL6	0.229	0.008
	TNF $\alpha$ -IL6	0.474	0.0001
	IFN $\gamma$ -IL10	-0.181	0.037
Plaquetario-plaquetario	PF4-BTG	0.313	0.013

## Discusión

Como podemos observar en la Tabla 8 hubo diferencias significativas entre los grupos en la Biometría hemática y también algunos parámetros fuera del rango de lo esperado.

Es importante remarcar el hecho de que el VPM está incrementado en el grupo de pacientes con Zika (incluso es más alto que el valor de referencia sugerido por el laboratorio) y pacientes con fiebre respecto al grupo de sujetos sanos. Este dato sugiere fuertemente la activación plaquetaria debido al incremento de superficie en las plaquetas.

Los monocitos en el grupo de pacientes con Zika están disminuidos en comparación al grupo de fiebre y sujetos sanos. Siendo esta la única diferencia hallada entre el grupo de fiebre y Zika, esto se puede intentar explicar debido a la diferente respuesta inmune desplegada en la infección de Zika respecto a otros procesos patológicos en los pacientes de fiebre.

De igual forma los las cifras de linfocitos y basófilos están disminuidas respecto al grupo control. Estos dos hechos pueden deberse a la extravasación de monocitos, basófilos y linfocitos al sitio de infección que conlleva a la disminución de las cifras cuantificadas en suero.

Por otra parte las cifras de neutrófilos están incrementadas en el grupo de pacientes con infección Zika y fiebre respecto a al grupo de sujetos sanos, esto se puede explicar dado que bajo condiciones de inflamación o en infecciones la granulopoyesis de neutrófilos se puede aumentar con la finalidad de restaurar la homeostasis en médula ósea después del reclutamiento de neutrófilos a sitios periféricos (Granulopoyesis de emergencia) (107). Aunque los neutrófilos tienen una papel clásico como fagocitos en las infecciones bacterianas y por sus acciones antifúngicas, cada vez hay más evidencia de los roles no clásicos de los neutrófilos que incluyen repuestas virales(108) (107). Además la formación de NETs también puede mediar la defensa antiviral, ya que con estas redes es capaz de atrapar e inactivar no sólo bacterias, sino también virus (109).

En cuanto a estos hallazgos aún hay controversia, el grupo de Mittal y colaboradores por ejemplo sugiere que hallazgos como leucopenia, trombocitopenia, y linfocitos activados pueden servir como marcadores de la presencia de la infección de Zika (15). Contrariamente a otros grupos como el de Yasri S y colaboradores que encontraron cifras normales de conteo de plaquetas en pacientes con Zika (110), además hay varios estudios como el de Ioos y cols (38) y Lee y cols (111) que sugieren que datos en la biometría hemática como trombocitopenia y leucopenia son más características de otras arbovirosis como dengue y chikunkunya. Por otra parte Eckerle y colaboradores reportan que si bien la trombocitopenia, leucopenia e incluso linfopenia pueden ser a veces o no típicamente observados, éstas condiciones serán más frecuentemente observadas en dengue y

chikungunya (112). Por último de acuerdo a datos de la Secretaría de Salud y en Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea la leucopenia, neutropenia, linfopenia y trombocitopenia no se observan en Zika y son más distintivas para dengue y chikungunya (75).

Los signos de exantema y conjuntivitis no purulenta característicos de infección por virus Zika documentados e en pacientes muestreados se puede observar en la Figura 17.

De manera interesante podemos remarcar el hecho de que el 50% de los pacientes que fueron diagnosticados por el RT-PCR como Zika positivos no cumplen con la definición operacional de caso sospechoso de Zika marcada como exantema y al menos dos de las siguientes manifestaciones fiebre, cefalea, mialgias, artralgias, prurito, edema, dolor retroocular y conjuntivitis según los lineamientos del INDRE.

Como podemos observar en la Tabla 10, la definición operacional sólo la cumplió en el 50% de los pacientes positivos a Zika debido a que por una parte, el exantema, signo más patognomónico de Zika, sólo estuvo presente en 8 de los 12 pacientes positivos que equivale al 66.7% del total de pacientes (4 de los pacientes Zika positivo no presentó exantema que fueron el Paciente 8, 9 10 y 12), por el otro lado 2 de los pacientes Zika positivo que si presentó exantema no presentaban dos, si no solamente una de las manifestaciones claves anteriormente descritas (Paciente 1 y 2). Contrastantemente el edema que es parte de la definición operacional no se observó en ninguno de los pacientes positivos a Zika.

Varios estudios demuestran, como lo expondremos a continuación que la caracterización de signos y síntomas puede ser muy diversa y algunos elementos de la definición operacional no están presentes en las manifestaciones clínicas, en cambio otras que son frecuentes no están contempladas en la definición.

Las definiciones operaciones han ido cambiando y se ajustan a los datos que surgen de las descripciones clínicas.

En nuestro estudio los datos clínicos más frecuentes en pacientes con Zika fueron fiebre (75.0%), exantema (66.7%), cefalea (58.3%) y dolor retroocular (58.3%) (Figura 16).

La comparación entre estas manifestaciones y otros estudios se resume en la Tabla 13. En el estudio realizado por en México por Jiménez Corona y cols (113), por ejemplo encontraron que las manifestaciones más comunes en Zika fueron fiebre (96.6%), este dato es igual al de nosotros donde la fiebre es el signo más frecuente, seguido de exantema (93.3%), conjuntivitis (88.8%) y mialgias (84.4%), el edema tampoco se presentó en los pacientes. El estudio en México por Cabrera- Gaytan y colaboradores (114) se encontró que no todos los pacientes con Zika cursaron con exantema, de hecho lo reporta en un 63.3%, una cifra muy similar a la este estudio, además de fiebre (44.0%), que coincide con ser el más frecuente igual que nuestro estudio, seguido de cefalea (40.4%) y mialgias (40.4%), los pacientes no refirieron prurito que es un síntoma contemplado en la definición operacional del InDRE. Estos datos de manifestaciones clínicas se obtuvieron a través de un metaanálisis, y cabe destacar que la definición de caso sospechoso de Zika dada por la OPS en el 2015, consistía en: paciente que presentara exantema o elevación de temperatura corporal axilar ( $> 37.2$  °C) y uno o más de los siguientes síntomas (que no se explican por otras condiciones médicas): artralgias o mialgias, conjuntivitis no purulenta o hiperemia conjuntival cefalea o malestar general. Otro estudio de Armstrong y colaboradores en Estados Unidos (115) reporta que el Zika se presentó en los pacientes con exantema (98.0%), fiebre (82.0%), artralgias (66.6%), y cefalea (57.0%), un signo que encontró también dentro de los más frecuentes que no está en la definición operacional es el vómito encontrado en un 19.0%. Los estudios mencioanados a continuación tienen al exantema como signo más frecuente. Brasil y cols (116) reportaron en su estudio hecho en Brasil que los síntomas más comunes fueron exantema (97%), prurito (79%), cefalea (66%), y mialgias (61%), otro síntoma frecuente que hallaron no incluido en la definición operacional que el dolor de espalda baja (51%). Por último podemos mencionar el estudio de Duffy y cols, hecho en Micronesia (28) donde el exantema se halló en un 90%, la fiebre en un 65%, y las artralgias junto con la artritis en un 65%, y la conjuntivitis en un 55%, otro signo hallado con frecuencia fue el vómito(10%).

Tabla 13: Comparación de diversos estudios de signos y síntomas de Zika

(A la izquierda se muestran los datos obtenidos en este estudio)

SIGNO/SÍNTOMA	% (N)	Jiménez	Cabrera	Armstrong	Brasil	Duffy
		Corona	Gaytan	%	%	%
Fiebre	75.0 (9)	96.6	44.0	82	36	65
Exantema	66.7 (8)	93.3	63.3	98	97	90
Cefalea	58.3 (7)	85.4	40.4	57	66	45
Dolor retroocular	58.3 (7)	47.2	13.8	NR	45	39
Artralgias	50 (6)	20.2	33.0	66	63	65**
Mialgias	41.7 (5)	84.3	40.4	55	61	48
Conjuntivitis	33.3 (4)	88.8	22.9	37	56	55
Prurito	16.7 (2)	80.9	NR	NR	79	NR
Edema	0 (0)	NR	17.4	NR	29	19

NR no reportado  
 ¥ Diarrea 19 %  
 § Dolor de espalda baja 51%

\* vómito 10%  
 \*\* artritis y artralgias

Los pacientes con fiebre aguda tuvieron manifestaciones clínicas muy variadas, sin embargo no se puede establecer un diagnóstico certero debido a que no se les realizó pruebas de laboratorio para confirmar alguna patología.

Es posible que estos pacientes estuvieran cursando por una infección de origen viral distinta a Dengue, Chikunkunya, o Zika o de origen bacteriano. Esto debido a la fiebre es un síntoma cardinal (aunque no exclusivo) de las infecciones. Por otra parte, las manifestaciones clínicas que se detallan en la Figura 16, nos indica que estos pacientes refirieron faringitis (50%), tos (40.6%), vómito (28%), y diarrea (18.8%), estas manifestaciones clínicas también podrían sugerir datos de infección. Como se visualiza en la misma Figura, las manifestaciones clínicas más frecuentes en los grupos de estudio fueron diferentes, en el grupo de pacientes de fiebre aguda, los signos y síntomas más frecuentes fueron cefalea (93.8%), mialgias (81.3%), artralgias (82.8%) y náuseas (71.9%), mientras que los pacientes con infección Zika, tienen un mayor porcentaje de manifestaciones clínicas incluidas en la definición operacional de Zika.

De los nueve biomarcadores cuantificados, cuatro (44.44%) resultaron con diferencias significativas entre los tres grupos de estudio (Tabla 11). La representación gráfica del análisis entre grupos que se observa en la Figura 18 nos señala que de estas cuatro

diferencias significativas, dos corresponden a diferencias entre los pacientes con Zika y fiebre aguda, estos son la BTG ( $p=0.015$ ), y  $TNF\ \alpha$  ( $p=0.015$ ). La IL6 ( $p=0.004$ ), BTG ( $p=0.021$ ), y FvW ( $p=0.002$ ) fueron significativamente más altos en pacientes con Zika que en grupo control. La IL6 ( $p=0.0001$ ),  $TNF\ \alpha$  ( $p=0.0001$ ) y FvW ( $p=0.002$ ) fueron significativamente más altos en los pacientes con fiebre aguda respecto al control.

La BTG, el VPM, y aunado al FvW que están más elevados en pacientes con Zika son datos que muestra activación plaquetaria, y en el caso del FvW, indica disfunción endotelial, por lo tanto sugerimos que las plaquetas tienen un papel dentro de esta infección y donde también puede haber daño endotelial.

Hay otras enfermedades inflamatorias donde se encuentra elevada la B-TG y PF4 como en la artritis reumatoide (117) y en pancreatitis (118). Matowicka-Karna y colaboradores encontraron también una elevación de BTG en pacientes con la infección parasitaria de Echinococcosis. Por otra parte, Kasperska-Zajac encontraron niveles altos de BTG en pacientes con inflamación alérgica (46). Todos estos estudios coinciden con una elevación de BTG y también de PF4, contrastantemente a nuestro estudio donde sólo tenemos encontramos niveles elevados de B.TG. De acuerdo el estudio de Uyar y colaboradores, la BTG y el VPM también se han visto incrementados en enfermedades inflamatorias crónicas como en pacientes con lupus sistémico eritematoso (119).

El FvW que se encontró más elevado en pacientes con Zika, dato que coincide con una elevación de IL6 también. En pacientes con fiebre también hallamos la elevación de FvW junto con la IL6 y el  $TNF$ , esto se puede explicar debido a que dentro de las citocinas pueden inducir la liberación del FvW, se encuentra el  $TNF\ \alpha$ , IL6 e IL 8 (89)(88)(90). La liberación del FvW también se ha evidenciado en enfermedades inflamatorias como en la diabetes por la producción de radicales libres (88), así como en vasculitis y artritis reumatoide (120).

Los niveles de  $TNF\ \alpha$  en los pacientes con fiebre aguda es un dato que se puede explicar debido a que  $TNF\ \alpha$  es una citocina pirógena que está involucrada en el desencadenamiento de la fiebre. Además, pese a que la fiebre es un síntoma común en la infección Zika, en este estudio sólo se presentó en 9 pacientes, que representa un 75% del total de pacientes con

Zika. El TNF  $\alpha$  que también está asociado a severidad coincide con el dato de que 4 pacientes con fiebre aguda estuvieron hospitalizados, por el contrario todos los pacientes Zika positivo tuvieron manejo ambulatorio.

No hay estudios de biomarcadores plaquetarios cuantificados en Zika, ni comparados con pacientes con fiebre, pero parte de las aportaciones importantes de este estudio es que se encontró significativamente más elevada la B-TG, en pacientes con Zika respecto a los pacientes con fiebre y a los donadores sanos, además del incremento del VPM. Por otra parte TNF  $\alpha$  resultó significativamente más incrementada en fiebre respecto a los pacientes con Zika y donadores sanos.

Barros y colaboradores, analizaron un total de 27 biomarcadores, dentro de los que se encontraban citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento y encontraron sólo 5 citocinas elevadas en 36 pacientes con Zika en fase aguda respecto a su grupo control que fueron IL-1ra, IL-2, IL-9, IL-15, e IFN- $\gamma$ . Al que igual que en este estudio no se encontró significativamente más alto la IL10, pero coincidimos en que también encontró elevada la IL6 con respecto al grupo control. A diferencia de que, para este grupo de estudio el IFN  $\gamma$  si se reportó elevado. Es importante mencionar que este estudio fue realizado en una zona endémica de Brasil, donde la población está expuesta constantemente a arbovirus como Dengue, Zika, Chikungunya y Fiebre Amarilla (121). Los datos de inflamación moderada coinciden con nuestro estudio que también fue realizado en una zona endémica. Es probable que esta condición y otros factores ambientales, así como el hecho de estos pacientes el riesgo de que hayan contraído otra arbovirosis previamente de forma sintomática o asintomática, puedan afectar la respuesta inflamatoria en este contexto de la infección por Zika.

Por otra parte, en el estudio de Tappe (122) se cuantificaron diversos biomarcadores en la fase aguda de 6 pacientes con Zika, y se encontraron incrementados significativamente cuando se comparó con los controles, en este dato coincide con nuestro estudio, también encontró la IL6, IL-1b, IL17, MIP- 1a (Proteína de macrófago inflamatoria 1 alpha) de , IP 10, (Interferón Gamma inducido por proteína 10), RANTES, IL4, IL10 IL13, IL-2, e IL9 el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF). Respecto a este estudio coincidimos

en la elevación de la IL6 respecto a nuestro control y también coincidimos en que, pese a fueron cuantificadas no fueron significativamente más altas las concentraciones de TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  ni IL10. La marcada diferencia de inmunorreactividad y estado de inflamación entre nuestro estudio y el estudio de Barros en comparación al estudio de Tappe pudiera deberse a que estos pacientes no residían en una zona endémica, si no que contrajeron la infección viajando en el Sureste de Asia, la Polinesia Francesa o Brasil, contrario a los otros estudios que fueron hechos en zonas endémicas.

Por último se encontraron varias correlaciones significativas entre los biomarcadores de activación plaquetaria, daño endotelial e inflamación. Como se muestra en las Figuras 19 y 20 y la Tabla 12. Esto nos indica que en un panorama general (donde se incluyen a los tres grupos de estudio), la activación plaquetaria y el daño endotelial son procesos que se incrementan simultáneamente con la inflamación, como se observa en las correlaciones positivas del VPM con IFN  $\gamma$ , IL6, TNF  $\alpha$ , FvW, Psel-IFN  $\gamma$ , así como en la correlación positiva de FvW con IL6 e IFN  $\gamma$ . Por otra parte la correlación positiva del PF4 con la IL10 nos señala que el PF4 estará incrementado mientras haya menor cantidad de IL 10 que es un biomarcador antiinflamatorio, y viceversa, esta correlación es similar a la correlación negativa del VPM con la IL 10, que sugiere que habrá más activación plaquetaria, y por lo tanto aumento de volumen plaquetario, cuando haya menor cantidad de IL10.

La correlación de PF4, con BTG, puede ser atribuir debido a que al activarse las plaquetas se pueden liberar de sus gránulos simultáneamente más de un biomarcador.

La condición inflamatoria dada en los grupos de estudio se evidencia con la elevación simultánea de varios biomarcadores inflamatorios, esto se puede observar debido a la correlación positiva de IL6 con IL10, IFN  $\gamma$  y TNF  $\alpha$ , e IFN  $\gamma$  con IL10.

Estas correlacionales se hicieron incorporando a los tres grupos donde, el tono azul más fuerte representa al grupo de pacientes con Zika, el azul de tono medio representa a los pacientes con fiebre aguda y en azul más claro es el grupo control. Gracias a esta distribución podemos observar que hay una tendencia en estas correlaciones donde el VPM y los biomarcadores cuantificados en el grupo control están más cercanos al 0 en el eje de las “x” y “y” en las gráficas, esto nos indica que en general el VPM y la concentración de

biomarcadores fueron menores respecto al grupos de pacientes con infección Zika y fiebre aguda (Gráfico A C y D en la Figura 19). Este mismo comportamiento se puede observar en la Figura 20 en el Gráfico A, donde se observa que las concentraciones de FvW e IFN  $\gamma$  son menores respecto al grupo de pacientes

Es posible que debido a la evidencia de que las plaquetas son células que ayudan a inducir y mantener la inflamación (123) (124) (42), se encuentren también estas correlaciones positivas de biomarcadores de activación plaquetaria con biomarcadores de inflamación. Además de el hecho de que las plaquetas pueden activarse en condiciones patológicas de inflamación.

Es importante mencionar que no hay estudios de cuantificación de biomarcadores de activación plaquetaria en infección Zika.

El FvW es liberado cuando hay daño endotelial, y en condiciones patológicas de inflamación, estas condiciones se cumplen debido al estado inflamatorio de la infección. En el daño del endotelial, se libera FvW y trombina, estos son estímulos fisiológicos de activación plaquetaria. La trombina es un poderoso quimioatrayente que recluta más plaquetas al sitio de daño, por su parte, el FvW promueve la adhesión de plaquetaria para crear un tapón hemostático, para esto las plaquetas deforman su estructura del citoesqueleto y aumentan el VPM.

Sabiendo que las plaquetas liberan sustancias bioactivas con potencial inflamatorio (124), se puede explicar la correlación negativa del VPM con la IL10 que es inmuregulator antiinflamatorio. Es posible que las plaquetas también tengan un papel inmuregulator, pues hay evidencia de que las plaquetas activadas mejoran la secreción de IL-10 y reducen la secreción de TNF- $\alpha$  por monocitos, por un mecanismo aún desconocido (125). Por otra parte la asociación del VPM con el TNF  $\alpha$  se puede justificar debido a que TNF  $\alpha$  induce la expresión de PDGF (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas), que es liberado de las plaquetas activadas y tiene roles importantes en la angiogénesis (126), también hay evidencia de que el TNF  $\alpha$  es una citocina que desencadena activación plaquetaria en pacientes con falla cardíaca (127).

Por otra parte se ha demostrado en estudios que la IL6 es capaz de inducir activación plaquetaria, y fomentar la agregación plaquetas-leucocitos. La IL 6 también estimula la formación de plaquetas en el megacariocito (128) (129) (130).

En cuanto a la correlación de IFN  $\gamma$  y VPM, podemos decir que hay estudio que demuestran la interacción de IFN  $\gamma$  como las plaquetas, como en la inducción de la citotoxicidad como función de las plaquetas mediada por linfocinas (que requiere previamente la activación plaquetaria), donde las plaquetas son capaces de eliminar a larvas jóvenes de *Schistosoma mansoni*, debido a esta capacidad citotóxica inducida por IFN  $\gamma$ . Además se han caracterizado sitios de unión de IFN  $\gamma$  en las plaquetas, así como la presencia de receptores de alta afinidad en la superficie de una línea celular humana megariocítica (131)(132).

El IFN  $\gamma$  también tiene efectos moduladores en la liberación de FvW(133)(134)(135). Se ha propuesto que la IL6 proinflamatoria puede inducir la expresión del Factor Tisular, en el endotelio dañado ,este puede ser un mecanismo mediante el cual el endotelio dañado libere FvW que puede ser cuantificado en plasma (136). También hay estudios que sugieren que la IL 6 sólo cuando está con su complejo soluble del receptor, induce la liberación de FvW (137).

Por otra parte se ha evidenciado el papel modulador de IFN  $\gamma$  en la expresión de la P-Selectina y E-Selectina (138).

La asociación de VPM con la IL0 con la PF4 se puede explicar debido a que la activación plaquetaria y por consiguiente el incremento de PF4, se lleva a cabo en condiciones inflamatorias; al mismo tiempo, para no tener una inflamación exacerbada con efectos dañinos, son activados mecanismos antiinflamatorios como la secreción de IL10 por linfocitos. Para desactivar el mecanismo inflamatorio monocito-macrófago.

## Resumen de resultados:

- La definición operacional no se cumplió en el 50% de los pacientes Zika positivos, por lo que es necesario monitorear las manifestaciones clínicas de esta infección para tener modelos predictivos de definiciones operacionales mas reales.
- En los parámetros de la biometría hemática se encontró como hallazgo en los pacientes con Zika ligera neutrofilia y aumento de VPM, mientras que en los pacientes con fiebre todos los parámetros fueron normales.
- En los pacientes con fiebre y Zika se demostró la activación plaquetaria, por lo que las plaquetas están teniendo un papel inmunológico e inflamatorio en estas patologías.
- Pacientes con Zika: Mayor activación plaquetaria: aumento del VPM, B-TG y FvW y un modesto estado inflamatorio con la elevación de IL6.
- Pacientes con fiebre: estado inflamatorio más exacerbado con aumento de TNF  $\alpha$  e IL6 y menor activación plaquetaria con incremento de BTG y FvW.
- Es posible que en zonas endémicas de arbovirus las manifestaciones clínicas de Zika y el estado inflamatorio en los pacientes se presenten de forma distinta a la población no expuesta a arbovirus
- Las correlaciones positivas de biomarcadores de activación plaquetaria/daño endotelial e inflamación sugieren que estas condiciones se elevan o disminuyen simultáneamente.

## Conclusión:

Los pacientes con infección por virus Zika presentan biomarcadores de activación plaquetaria y de daño endotelial elevados que correlacionan con biomarcadores de inflamación lo cual sugiere que las plaquetas están involucradas en la respuesta inmunológica a la infección por virus Zika.

## Bibliografia:

1. Pingen M, Schmid MA, Harris E, McKimmie CS. Mosquito Biting Modulates Skin Response to Virus Infection. *TrendPar*. 2017;33(8):645–57.
2. Thiel J-H, Collet MS, Gould EA, Heinz FX, Meyers G, et al. (2005) Family Flaviviridae. In: *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Deusselberger U, Ball LA, eds. San Diego: Els.
3. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, et al. (2008) Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis* 14: 1232–1239.
4. Besnard M, Lastère S, Teissier A, Cao-Lormeau VM, Musso D. Evidence of perinatal transmission of zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Eurosurveillance*. 2014;19(13):8–11.
5. D’Ortenzio E, Matheron S, Yazdanpariah Y, Al E. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *N Engl J Med*. 2016;374(22):2195–8.
6. CDC. Clinical Guidance for Healthcare Providers for Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/zika/hc-providers/clinical-guidance/sexualtransmission.html>
7. Calvet G, Aguiar RS, Melo ASO, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(6):653–60.
8. Joguet G, Mansuy JM, Matusali G, Hamdi S, Walschaerts M, Pavili L, et al. Effect of acute Zika virus infection on sperm and virus clearance in body fluids: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):1200–8.
9. Bierlaire D, Mauguin S, Broult J, Musso D. Zika virus and blood transfusion: the experience of French Polynesia. *Transfusion*. 2017;57((3)):729–33.
10. St AK, Germany G, Barcelona H, Toulouse C, Kh K, Investigators F. Evidence for Transmission of Zika Virus by Platelet Transfusion. 2016;9–11.
11. Haddow AD, Schuh AJ, Yasuda CY, Kasper MR, Heang V, Huy R, et al. Genetic characterization of zika virus strains: Geographic expansion of the asian lineage. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(2).
12. Estructura del virus Zika [Internet]. Available from: <https://flagellum.wordpress.com/2016/04/15/zika-nano-arquitectura-de-un-problema-viral-emergente/>
13. Sirohi D, Kuhn RJ. Zika Virus Structure, Maturation, and Receptors. *J Infect Dis*. 2017;216(February):S935–44.
14. Freire CCM, Iamarino A, Neto DFL, Sall AA, Marinho P, Zanotto A. Spread of the pandemic Zika virus lineage is associated with NS1 codon usage adaptation in humans. *bioRxiv*. 2015;2015(August):1–8.
15. Mittal R, Nguyen D, Debs LH, Patel AP, Liu G, Jhaveri VM, et al. Zika Virus: An Emerging Global Health Threat. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7(December).
16. Shankar A, Patil AA, Skariyachan S. Recent perspectives on genome, transmission, clinical manifestation, diagnosis, therapeutic strategies, vaccine developments, and challenges of zika virus research. *Front Microbiol*. 2017;8:1–14.
17. Cimini E, Castilletti C, Sacchi A, Casetti R, Bordoni V, Romanelli A, et al. Human

- Zika infection induces a reduction of IFN- $\gamma$  producing CD4 T-cells and a parallel expansion of effector V $\delta$ 2 T-cells. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–10.
18. Priyamvada L, Suthar MS, Ahmed R, Wrammert J. Humoral Immune Responses Against Zika Virus Infection and the Importance of Preexisting Flavivirus Immunity. *J Infect Dis*. 2017;216(January):S906–11.
  19. SS (Secretaría de Salud), DGE (Dirección General de Epidemiología). Lineamientos para la vigilancia por laboratorio del dengue y otras arbovirosis. Secretaría de Salud, México. 2017. p. 30–1.
  20. OMS. Enfermedad por el virus de Zika [Internet]. Available from: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>
  21. OPS/OMS. Alerta epidemiológica. Infección por virus Zika. 7 de mayo de 2015 [Internet]. 2015. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=30076&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=30076&lang=es)
  22. Lagunas-Rangel FA, Viveros-Sandoval ME, Reyes-Sandoval A. Current trends in Zika vaccine development. *J virus Erad*. 2017;3(3):124–7.
  23. Baud D, Gubler DJ, Schaub B, Lanteri MC, Musso D. An update on Zika virus infection. *Lancet*. 2017;390(10107):2099–109.
  24. Carrillo-Hernández MY, Ruiz-Saenz J, Villamizar LJ, Gómez-Rangel SY, Martínez-Gutierrez M. Co-circulation and simultaneous co-infection of dengue, chikungunya, and zika viruses in patients with febrile syndrome at the Colombian-Venezuelan border. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):1–12.
  25. Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. ZIKA VIRUS (I). ISOLATIONS AND SEROLOGICAL SPECIFICITY BY. 1952;46(5):509–20.
  26. Moore DL, Causey OR, Carey DE, Reddy S, Cooke AR, Akinkugbe FM, et al. Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964-1970. *Ann Trop Med Parasitol*. 1975;69(1):49–64.
  27. Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: Virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg (Lond)*. 1979;83(2):213–9.
  28. Duffy, Mark R, Chen, Tai-Ho, Hancock TW et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med*. 2009;2536–43.
  29. (European Centre for Disease Prevention and Control). Rapid risk assessment: Zika virus infection outbreak French Polynesia. 2014.
  30. Organización Mundial de la Salud. Virus del Zika, microcefalia y síndrome de Guillain-Barré Informe sobre la situación 21 de abril del 2016 [Internet]. 2016. p. 16. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204688/1/zikasitrep\\_17Mar2016\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204688/1/zikasitrep_17Mar2016_spa.pdf?ua=1)
  31. OPS/OMS. Actualización epidemiológica. Síndrome neurológico, anomalías congénitas e infección por virus Zika, 17 de enero de 2016 [Internet]. 2016. p. 3. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=32877&Itemid=270&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=32877&Itemid=270&lang=en)
  32. OMS. Zika-Actualización epidemiológica [Internet]. 2016. p. 1–7. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=34185&Itemid=270&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=34185&Itemid=270&lang=en)
  33. OPS/OMS. Alerta epidemiológica. Síndrome neurológico, anomalías congénitas e

- infección por virus Zika. Implicaciones para la salud pública en las Américas 1 de diciembre de 2015 [Internet]. 2015. p. 1–12. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=32404&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=32404&lang=en)
34. SS (Secretaría de Salud), SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica) D (Dirección G de E. “Casos Confirmados de Enfermedad por Virus del Zika ” , Semana Epidemiológica 15 del 2018 [Internet]. 2018. p. 1. Available from: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/zika-informacion-relevante>
  35. DGE S. Lineamientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico por laboratorio de infección por virus Zika [Internet]. Lineamientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica y diagnóstico por laboratorio de infección por virus Zika. 2015. p. 17. Available from: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/207354/lineamientos\\_ve\\_y\\_lab\\_virus\\_zika.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/207354/lineamientos_ve_y_lab_virus_zika.pdf)
  36. SS (Secretaría de Salud), SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica) D (Dirección G de E. Casos confirmados de Síndrome de Guillain- Barré asociado a Zika en México [Internet]. 2018. p. 1. Available from: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/zika-informacion-relevante>
  37. DGE/DGAE/InDRE/INPer. Casos confirmados de Síndrome Congénito asociado a Zika , México 2018. 2018;1–4.
  38. Ioos S, Mallet H, Goffart IL, Gauthier V, Cardoso T, Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect.* 2014;44(7):302–7.
  39. CDC. Types of Zika Virus Tests [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/zika/laboratories/types-of-tests.html>
  40. Martínez-Murillo C, Quintana-González S. Hemostasia y trombosis. 2da edició. México, DF: Prado; 2008.
  41. Kapur R, Zufferey A, Boilard E, Semple JW. Nouvelle Cuisine: Platelets Served with Inflammation. *J Immunol.* 2015;194(12):5579–87.
  42. Kim S, Davis RP, Jenne CN. Platelets as Modulators of Inflammation. *Semin Thromb Hemos.* 2018;44(2):91–101.
  43. Yalçın K, Tahtaci G, Balcik O. Role of platelets in inflammation. *Dicle Med J / Dicle Tip Derg.* 2012;39(3):455–7.
  44. Michelson AD. Platelets. Tercera Ed. Elsevier; 2013. 344 p.
  45. M.R.Thomas andR.F.Storey, “The role of platelets in inflammation,” *Thrombosis and Haemostasis*,vol.114,no. 3, pp. 449–458, 2015.
  46. Kasperska-Zajac A, Rogala B. Platelet activation during allergic inflammation. *Inflammation.* 2007;30(5):161–6.
  47. Yun S-H, Sim E-H, Goh R-Y, Park J-I, Han J-Y. Platelet Activation: The Mechanisms and Potential Biomarkers. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1–5.
  48. Kamath S, Blann AD, Lip GYH. Platelet activation: Assessment and quantification. *Eur Heart J.* 2001;22(17):1561–71.
  49. Philipp von Hundelshausen, Frank Petersen EB. Platelet-derived chemokines in vascular biology. *Thromb Haemost.* 2007;97(5):704–13.
  50. Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(4):264–74.
  51. Karshovska E, Weber C, von Hundelshausen P. Platelet chemokines in health and disease. *Thromb Haemost.* 2013;110(5):894–902.

52. Nording H, Langer HF. Complement links platelets to innate immunity. *Semin Immunol.* 2018;37(January):43–52.
53. Kelly MT, Martin RR, White A. Mediators of histamine release from human platelets, lymphocytes, and granulocytes. *J Clin Invest.* 1971;50(5):1044–9.
54. Simon AY, Sutherland MR, Pryzdial ELG. Dengue virus binding and replication by platelets. *Blood.* 2015;126(3):378–85.
55. Hottz ED, Oliveira MF, Nunes PC, Nogueira RM, Valls-de-Souza R, Da Poian, Andrew S. Weyrich GAZ, Patricia T. Bozza and FAB. Dengue induces platelet activation, mitochondrial dysfunction and cell death through mechanisms that involve DC-SIGN and caspases. *J Thromb Haemost.* 2013;11(5):951–62.
56. Punyadee N, Mairiang D, Thiemmecca S, Komoltri C, Pan-ngum W, Chomanee N, et al. Microparticles Provide a Novel Biomarker To Predict Severe Clinical Outcomes of Dengue Virus Infection. *J Virol.* 2015;89(3):1587–607.
57. Solomon Tsegaye T, Gnirß K, Rahe-Meyer N, Kiene M, Krämer-Kühl A, Behrens G, et al. Platelet activation suppresses HIV-1 infection of T cells. *Retrovirology.* 2013;10:48.
58. Assinger A. Platelets and infection - An emerging role of platelets in viral infection. *Front Immunol.* 2014;5(DEC):10–2.
59. Kasper H, Braunwald L, Fauci J. *Harrison’s Principles of Internal Medicine.* 16th ed. 2005. 1049-1055 p.
60. Bernheim HA, Block LH, Atkins E. Fever: Pathogenesis, pathophysiology, and purpose. *Ann Intern Med.* 1979;91(2):261–70.
61. Ogoina D. Fever, fever patterns and diseases called “fever” - A review. *J Infect Public Health.* 2011;4(3):108–24.
62. Ortiz-Pereda V, López M, Arroita A, Aguilera L, Azkue J, Torre-Mollinedo F, et al. Antiinflamatorios no esteroideos y paracetamol en el tratamiento del dolor. *Gac Médica Bilbao.* 2007;104(4):148–55.
63. World health organisation. *Integrated management of childhood illness; 2008.* Retrieved from: [www.who.int](http://www.who.int).
64. O’Grady NPO, Barie PS, Bartlett JG, Bleck T, Carroll KRN, Kalil AC, et al. Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of Amer.
65. Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: The immune system feels the heat. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(6):335–49.
66. Netea MG, Kullberg BJ, Van der Meer JWM. Circulating Cytokines as Mediators of Fever. *Clin Infect Dis.* 2000;31(Supplement 5):S178–84.
67. Patino PJ, García de O D. Pathogenesis of fever. *IATREIA.* 1990;3(3):143–50.
68. Marik PE. Fever in the ICU. *Chest.* 2000;117(3):855–69.
69. Roth A, Basello G. Approach to the adult patient with fever of unknown origin. *Am Fam Physician.* 2003;68:2223–8.
70. Unger M, Karanikas G, Kerschbaumer A, Winkler S, Aletaha D. Fever of unknown origin (FUO) revised. *Wien Klin Wochenschr.* 2016;128(21-22):796–801.
71. Kluger MJ, Ringler DH, Anver MR. Fever and survival. *Science* 1975; 188:166–168.
72. Kluger MJ, Kozak W, Conn CA, et al. The adaptive value of fever. *Infect Dis Clin N Am* 1996; 10:1–20.

73. Braga JU, Bressan C, Dalvi APR, Calvet GA, Daumas RP, Rodrigues N, et al. Accuracy of Zika virus disease case definition during simultaneous Dengue and Chikungunya epidemics. *PLoS One*. 2017;12(6):e0179725.
74. OPS/OMS. Recursos de Zika: Definiciones de caso [Internet]. 2016. Available from: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11117&Itemid=41532&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11117&Itemid=41532&lang=es)
75. SS/CNTS. Diagnóstico diferencial [Internet]. p. 4. Available from: [http://cnts.salud.gob.mx/interior/DIAGNOSTICO\\_DIFERENCIAL\\_DENGUE\\_CHIKUNGUNYA\\_ZIKA.pdf](http://cnts.salud.gob.mx/interior/DIAGNOSTICO_DIFERENCIAL_DENGUE_CHIKUNGUNYA_ZIKA.pdf)
76. Brito, C. A.; Cordeiro MT. One year after the Zika virus outbreak in Brazil: from hypotheses to the evidence. Vol. 49, *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016. p. 537–43.
77. Tian G, Li JL, Wang DG, Zhou D. Targeting IL-10 in Auto-immune Diseases. *Cell Biochem Biophys*. 2014;70(1):37–49.
78. Zhang, J. M., & An J. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesth Clin*. 2007;45(2):27–37.
79. Curfs JHAJ, Meis JFGM, Hoogkamp-Korstanje JAA. A primer on cytokines: Sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(4):742–80.
80. Oppenheim JJ. Cytokines, their Receptors and Signals. In: *The Autoimmune Diseases: Fifth Edition*. 5th ed. Elsevier Inc.; 2014. p. 229–41.
81. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*. 2000;127(2):117–26.
82. Campbell I, Roberts L, Wicks I. Molecular targets in immune-mediated diseases : the case of tumour necrosis factor and rheumatoid arthritis. *Immunol Cell Biol*. 2003;81:354–66.
83. Chesler DA, Reiss CS. The role of IFN-gamma in immune responses to viral infections of the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(6):441–54.
84. Shrestha B, Wang T, Samuel MA, Whitby K, Craft J, Fikrig E, et al. Gamma Interferon Plays a Crucial Early Antiviral Role in Protection against West Nile Virus Infection. *J Virol*. 2006;80(11):5338–48.
85. Sundgren-Andersson AK, Ostlund P, Bartfai T. IL-6 is essential in TNF- $\alpha$ -induced fever. *Am Physiol Soc*. 2018;275(6 Pt 2):R2028–34.
86. Hernández-Zamora E, Zavala-Hernández C, Quintana-González S, Reyes-Maldonado E. von Willebrand disease, molecular biology and diagnosis. *Cirugía y Cir (English Ed)*. 2015;83(3):255–64.
87. Lenting PJ, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor biosynthesis , secretion , and clearance : connecting the far ends. 2019;125(13):2019–29.
88. Vischer UM. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost*. 2006;4(6):1186–93.
89. Gagnano F, Sperlongano S, Golia E, Natale F, Bianchi R, Crisci M, et al. The Role of von Willebrand Factor in Vascular Inflammation: From Pathogenesis to Targeted Therapy. *Mediators Inflamm*. 2017;
90. Kawecki C, Lenting PJ, Denis C V. von Willebrand factor and inflammation. *J Thromb Haemost*. 2017;15(7):1285–94.
91. Klement G, Shai E, Varón D. The Role of Platelets in Angiogenesis. In: Press A, editor. *Platelets*. Third Edit. 2013. p. 487–502.
92. Kowalska MA, Rauova L, Poncz M. Role of the platelet chemokine platelet factor 4

- (PF4) in hemostasis and thrombosis. *Thromb Res.* 2010;125(4):292–6.
93. Ferroni P, Martini F, Riondino S, La Farina F, Magnapera A, Ciatti F, et al. Soluble P-selectin as a marker of in vivo platelet activation. *Clin Chim Acta.* 2009;399(1-2):88–91.
  94. Wagner DD. New links between inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1321–4.
  95. José Daniel Salazar Exaire, Ruth Iliana Reyes Martínez, Raúl González Alvarez JCBG. P-selectina como marcador de reactividad endotelial en pacientes con preeclampsia. *Cir Ciruj.* 2004;72:121–4.
  96. San Miguel Hernández A, Inglada-Galiana L, García Iglesias R, Alonso Castillejos N, Martín Gil FJ. El ligando CD40 soluble: Marcador potencial de riesgo cardiovascular. *Rev Clin Esp.* 2007;207(8):418–21.
  97. Dugger K, Lowder TW, Tucker TA et al. Epithelial cells as immune effector cells: The role of CD40. *Semin Immunol.* 2009;21(5):289–92.
  98. L, García-Bueno JK. Marcadores inmunológicos en la enfermedad coronaria. *Cardiocyte.* 2010;45(1):18–21.
  99. Aruffo A, Farrington M, Hollenbaugh D, Li X, Milatovich A, Nonoyama S, et al. The CD40 ligand, gp 39, is defective in activated T cells from patients with X-linked hyper-IgM syndrome. *Cell.* 1993;72:291-300.
  100. Anand SX, Viles-Gonzalez JF, Badimon JJ, Cavusoglu E, Marmur JD. Membrane-associated CD40L and sCD40L in atherothrombotic disease. *Thromb Haemost.* 2003;90(3):377–84.
  101. Kaplan KL, Owen J. Plasma levels of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo. *Blood.* 1981;57(2):2–199 – 202.
  102. Bellon JL, Castellanos C, Acevedo L, Al. E. Measurement of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 to follow up patients with artificial heart valves. *Semin Thromb Hemos.* 1993;19(Suppl 1):178–82.
  103. Chung JH, Yeo HJ, Kim D, Lee SM, Han J, Kim M, et al. Changes in the levels of beta-thromboglobulin and inflammatory mediators during extracorporeal membrane oxygenation support. *Int J Artif Organs.* 2017;40(10):575–80.
  104. Chen Y, Zhou L, Yang Y. Effect of sublingual immunotherapy on platelet activity in children with allergic rhinitis. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017;83(2):190–4.
  105. CD ELISA Matched Pair Development [Internet]. Available from: <https://www.creative-diagnostics.com/CD-ELISA-matched-Pair-Development.htm>
  106. ELISA [Internet]. Available from: <http://nptel.ac.in/courses/102103047/30>
  107. Witter, Okunnu, Berg. The Essential Role of Neutrophils During Infection with the Intracellular Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes*. *J Immunol.* 2016;197(5):1557–65.
  108. Drescher B, Bai F. Neutrophil in viral infections, Friend or foe? *Virus Res.* 2013;171(1):1–7.
  109. Galani IE, Andreakos E. Neutrophils in viral infections: Current concepts and caveats. *J Leukoc Biol.* 2015;98(4):557–64.
  110. Yasri S, Wiwanitkit V. Platelet count in Zika virus infection: A summary on 26 cases. *Ann Trop Med Public Health* [serial online] 2016 [cited 2018 Jul 4];9:428. Available from: <http://www.atmph.org/text.asp?2016/9/6/428/193963>.
  111. Lee VJ, Chow A, Zheng X, Carrasco LR, Cook AR, Lye DC, et al. Simple Clinical and Laboratory Predictors of Chikungunya versus Dengue Infections in Adults.

- PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(9).
112. Eckerle I, Briciu VT, Ergönül, Lupşe M, Papa A, Radulescu A, et al. Emerging souvenirs—clinical presentation of the returning traveller with imported arbovirus infections in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(3):240–5.
  113. Jimenez M, De la Garza Barroso A, Rodríguez J, Al E. Clinical and Epidemiological Characterization of Laboratory - Confirmed Autochthonous Cases of Zika Virus Disease in Mexico. *PLOS Curr Outbreaks.* 2016;Edition 1.(May 2015):1–16.
  114. Cabrera-gaytán DA. Manifestaciones clínicas del virus Zika. 2016;54(2):225–9.
  115. Armstrong P, Hennessey M, Adams M, Cherry C, Chiu S, Harrist A, et al. Travel-Associated Zika Virus Disease Cases Among U.S. Residents--United States, January 2015-February 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(11):286–9.
  116. Brasil P, Calvet GA, Siqueira AM, Wakimoto M, de Sequeira PC, Nobre A, et al. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10(4):1–13.
  117. Karatoprak C, Uyar S, Abanonu GB, Pehlevan SM, Okuroglu N, Demirtunc R. The levels of  $\beta$ -thromboglobulin in female rheumatoid arthritis patients as activation criteria. *Rheumatol Int.* 2013;33(5):1229-1232.
  118. Osada J, Wereszczynska-Siemiatkowska U, Dabrowski A, Dabrowska MI. Platelet activation in acute pancreatitis. *Pancreas.* 2012;41(8):1319-1324.
  119. Uyar S, Abanonu GB, Pehlevan SM, Karatoprak C. Elevated beta-thromboglobulin and mean platelet volume levels may show persistent platelet activation in systemic lupus erythematosus patients. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(9):1–6.
  120. Blann AD, Herrick A, Jayson MI. Altered levels of soluble adhesion molecules in rheumatoid arthritis, vasculitis and systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 814–9.
  121. Barros JB de S, da Silva PAN, Koga R de CR, Gonzalez-Dias P, Filho JRC, Nagib PRA, et al. Acute Zika virus infection in an endemic area shows modest proinflammatory systemic immunoactivation and cytokine-symptom associations. *Front Immunol.* 2018;9(MAY):1–11.
  122. Tappe D, Pérez-Girón JV, Zammarchi L, Rissland J, Ferreira DF, Jaenisch T, et al. Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to reconvalescent phase. *Med Microbiol Immunol.* 2016;205(3):269–73.
  123. Kapur R, Zufferey A, Boilard E, Semple JW. Nouvelle Cuisine: Platelets Served with Inflammation. *J Immunol.* 2015;194(12):5579–87.
  124. Mark T, Storey R. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015;1114(2):449–58.
  125. Gudbrandsdottir S, Hasselbalch HC, Nielsen CH. Activated Platelets Enhance IL-10 Secretion and Reduce TNF- $\alpha$  Secretion by Monocytes. *J Immunol.* 2013;191(8):4059–67.
  126. TNF- $\alpha$  stimulation of fibroblast proliferation. Dependence on platelet-derived growth factor (PDGF) secretion and alteration of PDGF receptor expression. E J Bategay, E W Raines, T Colbert, et al *The Journal of Immunology*, 1995, 154 (11) 6040-6047.
  127. Pignatelli P, De Biase L, Lenti L, Al E. Tumor necrosis factor- $\alpha$  as trigger of platelet activation in patients with heart failure. *Blood Rev.* 2005;106(6):1992–4.
  128. Kerr R, Stirling D, Ludlam CA. Interleukin 6 and haemostasis. *Br J Haematol.* 2001;115:3–12.

129. Yan S, Russell J, Granger N. Platelet Activation and Platelet-leukocyte Aggregation Elicited in Experimental Colitis Are Mediated by Interleukin-6. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(2):353–62.
130. Platelet activation induced by interleukin-6: evidence for a mechanism involving arachidonic acid metabolism. Oleksowicz L, Mrowiec Z, Zuckerman D, Isaacs R, et al. *Thromb Haemost.* 1994;72(2):302-8.
131. Induction of platelet cytotoxic functions by lymphokines: role of interferon-gamma. Pancre V, Joseph M, Mazingue C et al. *J Immunol*, 1987, 138 (12) 4490-4495.
132. Monte D, Wietzerbin J, Pancre V, Merlin G, Greenberg SM, Kusnierz JP, et al. Identification and characterization of a functional receptor for interferon-gamma on a megakaryocytic cell line. *Blood.* 1991;78(0006-4971 (Print)):2062–9.
133. Shcheglovitova ON, Boldyreva N V., Sklyankina NN, Babayants AA, Frolova IS. IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , and IFN- $\gamma$  Have Different Effect on the Production of Proinflammatory Factors Deposited in Weibel-Palade Bodies of Endothelial Cells Infected with Herpes Simplex Virus Type 1. *Bull Exp Biol Med.* 2016;161(2):270–5.
134. Effects of interleukin-1, -2, -4, -6, interferon-gamma and granulocyte/macrophage colony stimulating factor on human vascular endothelial cells. Holzinger C, Weissinger E, Zuckermann A, et al. *Immunoly Lett.* 1993;35(2):109–17.
135. Tannenbaum BSH, Gralnick HR.  $\gamma$ -Interferon Modulates von Willebrand Factor Release. *Blood.* 1990;75(11):2177–85.
136. Chin B, Conway D, Chung N, Al E. Interleukin-6, tissue factor and von Willebrand factor in acute decompensated heart failure: relationship to treatment and prognosis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2003;14(6):515–21.
137. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong J. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell – derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood.* 2004;104(1):100–6.
138. Melrose J, Tsurushita N, Liu G, Berg EL. IFN- $\gamma$  Inhibits Activation-Induced Expression of E- and P-Selectin on Endothelial Cells. *J Immunol.* 1998;161(5):2457–64.

## ANEXO 1. Carta de consentimiento informado



### CARTA DE CONSENTIMIENTO

#### INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLITICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD



#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Lázaro Cárdenas, Michoacán a \_\_\_\_\_

Se le invita a participar en este estudio, registrado ante el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Michoacán titulado “Estudio de biomarcadores inflamatorios y de activación plaquetaria en infecciones virales emergentes en México: Dengue, Chikungunya y Zika”.

El siguiente documento le proporciona información detallada sobre el mismo. Por favor léalo atentamente.

#### JUSTIFICACION

Usted vive en una región del Estado de Michoacán donde con mucha frecuencia pueden adquirir enfermedades transmitidas por mosquitos (Dengue, Chikungunya y Zika); estas enfermedades producen síntomas difíciles de diferenciar y pueden desarrollar complicaciones que pueden ser peligrosas. Actualmente solo existe tratamiento para aliviar los síntomas ya que se desconocen muchos aspectos en estas enfermedades, por lo que este estudio tiene como objetivo describir en forma más precisa algo que se llama “**respuesta inflamatoria**” de cada una de estas enfermedades, con el propósito de identificar medicamentos que puedan ser más específicos para tratarlas

#### PROCEDIMIENTOS

A todas las personas que por sus síntomas se sospecha tienen la probabilidad de tener Dengue, Chikungunya, o Zika, habitualmente se les toman 2 muestras de su sangre una de 3ml en un tubo con anticoagulante EDTA (morada/azul) y otra de 5ml en un tubo seco (rojo), las cuales son enviadas a un laboratorio para el diagnóstico de Dengue o Chikungunya. Esta muestra adicional será utilizada para hacer estudios que sirven de indicadores en la respuesta inflamatoria llamados biomarcadores; algunas de estas muestras se seleccionarán y serán almacenadas en el Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular en la Facultad de Medicina de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo para otros biomarcadores más específicos.

#### RIESGOS Y MOLESTIAS

El procedimiento para tomarle su muestra de sangre de su antebrazo generalmente solo le provoca una ligera molestia o dolor al introducir o retirar la aguja; ocasionalmente se puede producir un hematoma (moretón) en el sitio de la punción pero esto no es peligroso.

#### INFORMACIÓN DE RESULTADOS Y ALTERNATIVAS DEL TRATAMIENTO

Los resultados de los estudios que se le realizan para el diagnóstico de estas enfermedades usted los conocerá siguiendo las instrucciones que la(s) personas responsables de hacerle seguimiento. Usted también tiene derecho a conocer los resultados de sus estudios que se le realicen si usted acepta participar en este estudio, lo cual usted los conocerá en cuanto se tengan disponibles y que podrá ser de manera directa o a través de su unidad médica a la cual usted acude regularmente. Los resultados pueden tardar algunos meses pues se analizarán una vez que se tengan todas las muestras para su estudio.

#### PARTICIPACIÓN O RETIRO

Usted podrá tener contacto con los investigadores para resolver cualquier duda. Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Es decir, que si usted no desea participar en el estudio, su decisión, no afectará su relación con el IMSS o la SSM ni su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que ya recibe.

#### PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Su nombre y datos personales de la investigación clínica, así como los resultados de laboratorio serán confidenciales y estarán protegidos por la Ley Federal de Protección de Datos Personales, aunque en caso de auditorías, inspecciones, presencia de eventos adversos serios, verificación de los datos del estudio, o certificación de los datos clínicos, los investigadores autorizados, el personal de la Comisión Nacional de Bioética, la Comisión Nacional de Investigación Científica, así como personal de la Secretaría de Salud de México tienen el derecho de revisar su expediente. La privacidad y confidencialidad de los expedientes y su contenido están protegidas por la ley; sin embargo, la información científica derivada de los resultados

obtenidos de este estudio puede ser publicada con la obligación de mantener su identificación de manera confidencial

**BENEFICIOS AL TERMINO DEL ESTUDIO**

Es importante que sepa que no recibirá ninguna compensación económica por participar en este estudio y que también el estudio no implica ningún gasto para usted. Al término del estudio se logrará conocer más acerca de la respuesta inflamatoria en estas enfermedades, que en un futuro permita poder desarrollar tratamientos más específicos.

**PERSONAL DE CONTACTO EN CASO DE DUDAS O ACLARACIONES**

Si tiene dudas sobre su participación puede comunicarse de 8:00 a 16:00 hrs, de lunes a viernes con la Dra. Georgina Ortiz Martínez, el Dr. Cleto Alvarez Aguilar en Michoacán; la D. C. Martha Eva Viveros Sandoval

Si Usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del IMSS, de 9 a 16:00 hrs. La Comisión

de Ética se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México D.F.

**Declaración de Consentimiento**

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

\_\_\_\_\_

Nombre y firma del paciente o tutor en caso de menores de edad.

**Firma del encargado de obtener el consentimiento informado**

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

**FIRMA TESTIGO 1**


Nombre y firma \_\_\_\_\_

**FIRMA TESTIGO 2**

Nombre y firma \_\_\_\_\_

ANEXO 2. Estudio epidemiológico de caso de enfermedades transmitida por vector

Anverso


  
**SISTEMA NACIONAL DE SALUD**
  
**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE CASO DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTOR**

**I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE:**

No. de afiliación o expediente: \_\_\_\_\_ Folio de Casos: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_ RFC: \_\_\_\_\_ CURP: \_\_\_\_\_

**DATOS DEL NACIMIENTO:** Fecha de nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Estado de nacimiento: \_\_\_\_\_ Municipio de nacimiento: \_\_\_\_\_

Sexo: M  F  Edad: Años \_\_\_\_ Meses \_\_\_\_ Días \_\_\_\_

**RESIDENCIA ACTUAL**

Domicilio: \_\_\_\_\_

Estado: \_\_\_\_\_ Ciudad: \_\_\_\_\_ Localidad: \_\_\_\_\_ Teléfono (s): \_\_\_\_\_

Calle: \_\_\_\_\_ y calle: \_\_\_\_\_ C.P.: \_\_\_\_\_

**LUGAR LABORAL**

Domicilio: \_\_\_\_\_

Municipio: \_\_\_\_\_ Localidad: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

¿Habla lengua indígena? Si  No  ¿Otra? \_\_\_\_\_ ¿Es indígena? Si  No  Ignorado:

**II. DATOS DE LA UNIDAD NOTIFICANTE**

Estado: \_\_\_\_\_ Jurisdicción: \_\_\_\_\_ Municipio: \_\_\_\_\_

Localidad: \_\_\_\_\_ Institución: \_\_\_\_\_ Clase de la Unidad: \_\_\_\_\_

Nombre de la Unidad: \_\_\_\_\_ Delegación: \_\_\_\_\_

FECHA DE SOLICITUD DE ATENCIÓN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ FECHA DE PRIMER CONTACTO CON LOS SERVICIOS DE SALUD COMO CASO PROBABLE DE DENGUE CON SIGNOS DE ALARMA O GRAVE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

FECHA DE INICIO DE ESTUDIO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ FECHA DE NOTIFICACIÓN A LA JURISDICCIÓN: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

FECHA DE NOTIFICACIÓN AL ESTADO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ FECHA DE NOTIFICACIÓN A LA DGE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ FECHA DE TERMINACIÓN DEL ESTUDIO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

DIAGNÓSTICO PROBABLE: \_\_\_\_\_ DIAGNÓSTICO FINAL: \_\_\_\_\_

**III. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS**

HA SALIDO DE SU LUGAR DE RESIDENCIA EN LAS ÚLTIMAS TRES SEMANAS: Si  No  En caso de respuesta afirmativa, especifique a dónde: \_\_\_\_\_

País: \_\_\_\_\_ Estado/Provincia: \_\_\_\_\_ Jurisdicción: \_\_\_\_\_ Ciudad/Municipio: \_\_\_\_\_

País: \_\_\_\_\_ Estado/Provincia: \_\_\_\_\_ Jurisdicción: \_\_\_\_\_ Ciudad/Municipio: \_\_\_\_\_

País: \_\_\_\_\_ Estado/Provincia: \_\_\_\_\_ Jurisdicción: \_\_\_\_\_ Ciudad/Municipio: \_\_\_\_\_

**PROCEDENCIA DE LA INFECCIÓN** De la jurisdicción  De otra jurisdicción dentro del estado  De otro estado (país)  De otro país (país)

**CONTACTO CON ANIMALES:** BOVEDA  OVINOS  GARRAPATA  OTRO

EMBITEN ENFERMOS SIMILARES EN LA LOCALIDAD: SI  NO  HA RECIBIDO TRANSFUSIONES SANGÜÍNEAS: SI  NO

ANTECEDENTES DE MUERTES INDIVIDUALES DE ANIMALES: SI  NO  EQUINO  AVE  OTRO

**IV. CUADRO CLÍNICO** (Si = 1, No = 2, Ignorado = 0)

Fuente de inicio de signos y síntomas: Fecha de inicio de la fiebre: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Temperatura: \_\_\_\_\_ °C

Fiebre	<input type="checkbox"/>	Dolor abdominal	<input type="checkbox"/>	Alteraciones cardiacas	<input type="checkbox"/>	Largo	<input type="checkbox"/>
Cefalea	<input type="checkbox"/>	Lipotimia	<input type="checkbox"/>	Náuseas	<input type="checkbox"/>	Choque	<input type="checkbox"/>
Artralgias	<input type="checkbox"/>	Orzuelo	<input type="checkbox"/>	Úlcera	<input type="checkbox"/>	Parosismo	<input type="checkbox"/>
Artralgias leves o moderadas	<input type="checkbox"/>	Conjuntivitis	<input type="checkbox"/>	Lesión de membranas (marcas)	<input type="checkbox"/>	Equimosis	<input type="checkbox"/>
Rosarialgias severas*	<input type="checkbox"/>	Compensación renal	<input type="checkbox"/>	Isquemia	<input type="checkbox"/>	1 hematócrito	<input type="checkbox"/>
Artritis	<input type="checkbox"/>	Tos	<input type="checkbox"/>	Insipidez	<input type="checkbox"/>	Trombocitopenia	<input type="checkbox"/>
Dolor de espalda	<input type="checkbox"/>	Fatiga	<input type="checkbox"/>	Rigidez de nuca	<input type="checkbox"/>	Acidosis	<input type="checkbox"/>
Dolor retroocular	<input type="checkbox"/>	Hepatorragia	<input type="checkbox"/>	Eritipor	<input type="checkbox"/>	Dermateo pleural	<input type="checkbox"/>
Exantema	<input type="checkbox"/>	Espionorragia	<input type="checkbox"/>	Desorientación	<input type="checkbox"/>	Edema	<input type="checkbox"/>
Purpura	<input type="checkbox"/>	Alteraciones del gusto	<input type="checkbox"/>	Torbidez	<input type="checkbox"/>	Plaf. moleada	<input type="checkbox"/>
Vómito	<input type="checkbox"/>	Agonorrreas	<input type="checkbox"/>	Conmoción	<input type="checkbox"/>	Clinorragia	<input type="checkbox"/>
Náuseas	<input type="checkbox"/>	Intoxicación	<input type="checkbox"/>	Deficiencia proteolítica	<input type="checkbox"/>	Epistaxis	<input type="checkbox"/>
Diarrea	<input type="checkbox"/>	Inflamación de párpado	<input type="checkbox"/>	Parálisis	<input type="checkbox"/>	Hematemesis	<input type="checkbox"/>
Escalofrío	<input type="checkbox"/>	Drona	<input type="checkbox"/>	CVI*	<input type="checkbox"/>	Nevus	<input type="checkbox"/>
Fotofobia	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>				

\* Inotropismos

**MANEJO:** Hospitalario  Ambulatorio  FECHA DE INGRESO: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**NOMBRE DE LA UNIDAD TRATANTE:** \_\_\_\_\_ CLUES: \_\_\_\_\_

Clave de la Unidad: \_\_\_\_\_

Instrucción: \_\_\_\_\_

Diagnóstico inicial hospitalario: \_\_\_\_\_

**Servicio de atención:**

Unidad médica  Terapia intensiva

Medicina interna  Gineco Obstetricia

Psiquiatría  Otros, especifique: \_\_\_\_\_

Terapia intensiva

**COMORBILIDAD Y/O OTRAS CONDICIONES:**

Trastorno hemorrágico  Diabetes  Hipertensión  Erit. ulcero péptico  Erit. renal

Insuficiencia  Cirrosis hepática  Embarazo  Otros  Especifica: \_\_\_\_\_

**V. EVOLUCIÓN EN EL HOSPITAL**

ESTABLE  GRAVE  MEJORA

**SEGUIMIENTO HEMATOLOGICO**

En caso de haber detectado escape de líquido o hemorragias, señalar:

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Hto: \_\_\_\_% Hb: \_\_\_\_ gr x 100ml Plaquetas: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup> Albumina: \_\_\_\_ g/dl Leucocitos: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup> Linfocitos: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup>

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Hto: \_\_\_\_% Hb: \_\_\_\_ gr x 100ml Plaquetas: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup> Albumina: \_\_\_\_ g/dl Leucocitos: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup> Linfocitos: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup>

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Hto: \_\_\_\_% Hb: \_\_\_\_ gr x 100ml Plaquetas: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup> Albumina: \_\_\_\_ g/dl Leucocitos: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup> Linfocitos: \_\_\_\_ x10<sup>9</sup>

\*Repetir de acuerdo a la evolución del enfermo

Líquido catabolizado con respecto de agua de mar: SI  No  Bilirrubina directa \_\_\_\_ mg/dl Bilirrubina total \_\_\_\_ mg/dl

DH4L U/L ALT U/L AST U/L

**ESTUDIOS DE GASES:**

Fecha de obtención: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Fecha de radiografía: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Líquido peritoneal y/o en cavidad torácica  Líquido en cavidad torácica  Megacolon  Megaciego

**DATOS DE EGRESO** Fecha de egreso: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Alta por Mejoría:  Alta voluntaria:  Detención:  Fecha de detención: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Folio de certificación de detención: \_\_\_\_ Fecha de Dictamen: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

**VI. ESTUDIO DE LABORATORIO:**

Se tomó muestra para laboratorio. SI  No

**Berngas** Fecha toma: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Fecha de recepción: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Folio de Laboratorio Berngas: \_\_\_\_

Fecha resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ NSI  ELISA IgM  ELISA IgG  PCR-Tiempo Real  Otra ( )

Resultado: +  -  Ind  +  -  Ind  +  -  Ind  +  -  Ind  +  -  Ind

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito  Otro  Fecha de rechazo: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Laboratorio donde se procesó la muestra: \_\_\_\_\_ Nombre de quien capturó el resultado: \_\_\_\_\_

**Chilunganya** Fecha toma: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Fecha de recepción: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Folio de Laboratorio Chilunganya: \_\_\_\_

Fecha resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ ELISA IgM  PCR-Tiempo Real  MAC - ELISA

Resultado: +  -  Ind  +  -  Ind  +  -  Ind

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito  Otro  Fecha de rechazo: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Laboratorio donde se procesó la muestra: \_\_\_\_\_ Nombre de quien capturó el resultado: \_\_\_\_\_

**Otro padecimiento:**  Especificar: \_\_\_\_\_ Fecha de Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

**Paludismo:** Gota gruesa: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Espejo: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito

**Lactoferrina:** Inmunofluorescencia: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Serología: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito

**Yersinia enterocolitica:** Dx parasitológico: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Serología: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito

**Histoplasma:** Serología: Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito

**Virus del O. Mito:** Plasma o Suero  Fecha: 1ª Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Suero  Fecha: 2da Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

LCR  Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Bispos  Fecha: Toma \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ +  -

Muestra rechazada:  Causa: Lipémica  Hemolizada  Muestra insuficiente  Día de tránsito

Laboratorio donde se procesó la muestra: \_\_\_\_\_

---

**VII. ESTUDIO DE DATOS SIMILARES**

NOMBRE	DOMICILIO	EDAD	SEXO		CASO
			M	F	

**VIII. OBSERVACIONES**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

NOMBRE Y FIRMA DE QUIEN LLENÓ EL FORMATO \_\_\_\_\_ NOMBRE Y FIRMA DE QUIEN AUTORIZÓ \_\_\_\_\_

Nota: Las fechas se pondrán en el siguiente orden día/mes/año

ANEXO 3. Carta de Aprobación de UMSNH



Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas  
"Dr. Ignacio Chávez"

SECRETARÍA ACADÉMICA  
A S U N T O: INFORMACIÓN

Morelia, Mich., 15 de Marzo de 2017.

**C. DRA. GEORGINA ORTIZ MARTINEZ**  
**ALUMNA DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA SALUD**  
**POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS**  
**"DR. IGNACIO CHÁVEZ"**  
**P R E S E N T E**

Le notifico que el protocolo de investigación que Usted presentó ante esta Secretaría Académica a mi cargo, y cuyo título es "**Estudio de biomarcadores inflamatorios y de activación plaquetaria en infecciones virales emergentes en México: Dengue, Chikungunya y Zika**" y que fue sometido a la evaluación del Comité de Investigación y Ética en Investigación de esta Dependencia Universitaria, quien (es) de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores consideraron que cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación vigentes, por lo que el protocolo fue **AUTORIZADO**, habiéndose asignado el número de registro de la dependencia siguiente:

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ETICA EN INVESTIGACIÓN	ÁREA	Nº DE REGISTRO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ"	POSGRADO	002/P/5/2017

Se le solicita informar del grado de avance del mismo acorde al cronograma de actividades así como el título de la revista, volumen, año y páginas una vez que el mismo sea publicado. En caso de que el mismo contemple la graduación de un alumno indicar fecha y grado académico obtenido.

Atentamente:

**DR. MARIO MIGUEL ANGEL HERRERA CHARRIS**  
**SECRETARIO ACADÉMICO**



FACULTAD DE CIENCIAS  
MÉDICAS Y BIOLÓGICAS  
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"  
SECRETARÍA  
ACADÉMICA

c.c.p. Coordinador de la Investigación Científica. UMSNH  
c.c.p. Archivo y Correspondencia de la Facultad.  
c.c.p. Archivo de la Secretaría Académica.  
c.c.p. Jefatura de Investigación Fac Cs Med y Biol. "Dr. Ignacio Chávez"  
DR.AVO/sgg\*

ANEXO 4. Carta de Aprobación de IMSS

SIRELCIS

Página 1 de 1

**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



12 de diciembre del 2016

Ref. 09-B5-61-2800/201600/ 3250

Dr. ORTIZ MARTINEZ GEORGINA  
COORDINACION CLINICA DE MEDICINA  
Michoacán


Presente:

Informo a usted que el protocolo titulado: **Estudio de biomarcadores inflamatorios y de activación plaquetaria en infecciones virales emergentes en México: Dengue, Chikungunya y Zika.** , fue sometido a la consideración de esta Comisión Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas vigentes, con base en las opiniones de los vocales del Comité de Ética en Investigación y del Comité de Investigación de la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS, se ha emitido el dictamen de **APROBADO**, con número de registro: R-2016-785-104.

De acuerdo a la normatividad vigente, deberá informar a esta Comisión en los meses de enero y julio de cada año, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo. Este dictamen sólo tiene vigencia de un año. Por lo que en caso de ser necesario requerirá solicitar una reaprobación al Comité de Ética en Investigación de la Comisión Nacional de Investigación Científica, al término de la vigencia del mismo.

Atentamente,

  
Dr. Fabio Salamanca Gómez  
Presidente  
Comisión Nacional de Investigación Científica

Anexo comentarios:

~~X~~ SNN/ iah. F-CNIC-2016-131

IMSS

COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud - Coordinación de Investigación en Salud

ANEXO 5. Carta de aprobación de Secretaría de Salud

SECRETARÍA DE SALUD DE MICHOACÁN  
LABORATORIO ESTATAL DE SALUD PÚBLICA

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN EN SALUD  
COMITÉ DE BIOSEGURIDAD

DICTAMEN DE AUTORIZADO

Morelia, Michoacán, a 4 de agosto de 2016.

DRA. MARTHA EVA VIVEROS SANDOVAL.

PRESENTE.

Por este conducto, se le notifica que el protocolo de investigación con título:

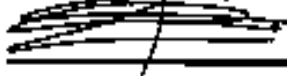
"Estudio de la respuesta inmune a infección por virus del Zika en el embarazo"

que sometió a consideración para evaluación de estos Comités, de acuerdo a las recomendaciones de sus integrantes cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y bioseguridad, por lo que el dictamen es **AUTORIZADO** con el número de registro **B2A2016F006**.



M.S.P. DENISE  
CAROLINA ZARAZÚA  
SÁNCHEZ  
COORDINADORA DEL  
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN  
EN SALUD

ATENTAMENTE



DR. LUIS FERNANDO  
CABRERA GARCÍA  
COORDINADOR DEL COMITÉ  
DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN  
EN SALUD



DRA. MARIA EUGENIA  
AUSTRIA PALACIOS  
COORDINADORA DEL  
COMITÉ DE BIOSEGURIDAD