

# Compromiso hepático por Dengue en niños del Huila, Colombia

## Dengue-related hepatic compromise in children from the Huila department of Colombia

Héctor F. Acosta<sup>1,2</sup>, Miguel A. Bayona<sup>1,2</sup>, Tatiana E. Zabaleta<sup>2</sup>, Luis A. Villar<sup>3</sup>  
Carlos F. Narváez<sup>1</sup>, Jairo A. Rodríguez<sup>1,2</sup> y Doris M. Salgado<sup>1,2</sup>

1 Programa de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia. facosta11@yahoo.es; domasal59@yahoo.com; cfnarvaez@usco.edu.co

2 Departamento de Pediatría, Hospital Universitario de Neiva. Neiva, Colombia. andresbayon@live.com; tatazas@hotmail.com; jrodriguez@usco.edu.co

3 Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. luisangelvillarc@gmail.com

Recibido 8 Febrero 2012/Enviado para Modificación 10 Mayo 2012/Aceptado 18 Julio 2012

### RESUMEN

**Objetivo** Determinar la frecuencia y severidad del compromiso hepático en niños con Dengue.

**Métodos** Estudio descriptivo que incluyó a 108 niños menores de 13 años con diagnóstico de infección por virus de Dengue, confirmada por detección plasmática de NS1 e IgM dengue-específica, que consultaron al Hospital Universitario de Neiva, en el período de junio de 2009 a mayo de 2010. El grado de daño hepático fue evaluado por criterios clínicos y bioquímicos que incluyeron transaminasas y albúmina. El diagnóstico de infección con *Leptospira* o Hepatitis A fue realizado por detección de IgM plasmática específica medida en fase aguda y convaleciente.

**Resultados** De los casos incluidos, 98 y 10 casos fueron clasificados como dengue con signos de alarma y Dengue grave, respectivamente. Dos de cada tres pacientes con Dengue presentaron signos de alarma y todos los pacientes con Dengue grave presentaron algún grado de compromiso hepático evidenciado clínica y bioquímicamente. Independientemente de la clasificación clínica, la hepatomegalia fue el signo clínico cardinal del compromiso hepático y se presentó en el 85 % del total de niños incluidos. De resaltar, 5 de los pacientes presentaron probable coinfección de dengue y leptospira, siendo la primera descripción en Colombia. En ninguno de los casos analizados se presentó enfermedad aguda por Hepatitis A.

**Conclusión** El compromiso hepático es muy frecuente en la infección por virus Dengue. Enfermedades como la leptospirosis deben ser tenidas en cuenta no sólo en el diagnóstico diferencial del paciente pediátrico febril con compromiso hepático, sino como causa de coinfección en el niño con Dengue en el sur de Colombia.

**Palabras Clave:** Virus dengue (DENV), disfunción hepática, hepatitis, dengue con signos de alarma (DSA), dengue grave (DG), leptospirosis (*fuente: DeCS, BIREME*).

## ABSTRACT

**Objective** Dengue is the most important arthropod-borne viral disease in the world; it can be life-threatening because of liver involvement.

**Aim** Determining liver involvement frequency and severity in dengue-infected children.

**Methods** This was a descriptive case series study which involved studying 108 dengue-infected children aged less than 13 years old whose infection had been confirmed by the detection of dengue-specific IgM and NS1 in plasma. Clinical and biochemical parameters were used for evaluating liver involvement, including transaminases and albumin. Hepatitis A and leptospira infection were also evaluated by using ELISA to detect pathogen-specific IgM in plasma during acute and convalescence phases. The study was carried out at a teaching hospital in Neiva from June 2009 to May 2010.

**Results** Ninety-eight of the aforementioned cases were clinically classified as dengue with warning signs (DWS) and 10 as severe dengue (SD). Two out of three DWS patients and all SD patients had some degree of liver involvement, shown clinically and biochemically. Regardless of the clinical classification, hepatomegaly was the main clinical sign of liver involvement and was present in 85% of all the children in the study. It is worth noting that 5 patients had probable dengue and leptospirosis co-infection, this being the first instance of this in Colombia. None of the cases analyzed here had acute hepatitis A.

**Conclusions** Liver compromise should be considered in confirmed cases of dengue as shown in this series of children. Leptospirosis must be considered as differential diagnosis and also as causing co-infection in a febrile child.

**Key Words:** Dengue virus (DENV), hepatic dysfunction, hepatitis, dengue with warning signs (DWS), severe dengue (SD), leptospirosis (*source: MeSH, NLM*).

Se considera al dengue como la enfermedad viral de transmisión vectorial más frecuente en el mundo (1). Cerca del 5 % de los individuos con dengue grave fallecen a pesar de ser una enfermedad que con adecuado tratamiento puede tener fatalidad menor al 1 % (2,3). El dengue es endémico en 112 países en el mundo, en las Américas se ha observado un aumento de 4,6 veces respecto a los reportes en épocas anteriores al año 2000 (1). En Colombia, los casos severos asociados al dengue presentan ascenso pasando de 0,01 a 0,07 defunciones/100 000 habitantes, entre 1995 y 2002; (4). Con la epidemia del 2010, se superaron todos los reportes previos con la presentación de 157 152 casos de dengue y 217 muertes confirmadas, el 25 % en menores de 2 años (5). La enfermedad es producida por un virus ARN, con 4 serotipos antigénicamente relacionados (DENV 1-4) (2).

Las manifestaciones clínicas del dengue abarcan un amplio espectro que va de formas asintomáticas hasta graves y potencialmente letales (3). La hemorragia y aumento en la permeabilidad vascular han sido clásicamente los

principales signos descritos en formas severas. Sin embargo, se ha reportado compromiso de órganos como miocardio y sistema nervioso central (6). A partir de los años 60 se empezó a describir en el sudeste asiático la presencia de compromiso hepático como manifestación atípica del dengue, asociada con mortalidad. Estos hallazgos fueron corroborados posteriormente con estudios histopatológicos en casos fatales por dengue en niños vietnamitas, encontrándose grados variables de hepatitis con focos aislados de necrosis, cuadros masivos con agrupamiento celular y cuerpos de Councilman (6-12).

La alteración en la funcionalidad hepática se manifiesta frecuentemente como un incremento de las enzimas hepáticas o transaminasas (AST y ALT), convirtiendo su medición en un elemento importante actualmente para la clasificación de la enfermedad (13-18). Así, la organización mundial de la salud (OMS) recientemente consideró el compromiso hepático como uno de los elementos fundamentales a evaluar en el paciente con dengue, dado que la disfunción de este órgano puede llevar al paciente a cuadros clínicos graves y potencialmente fatales (19).

El diagnóstico diferencial en áreas endémicas para dengue involucra varios agentes infecciosos que también tienen tropismo por el hígado como las hepatitis virales, citomegalovirus y leptospirosis; esta última ha sido considerada una enfermedad ocupacional, de viajeros a zonas endémicas, también se ha asociado a algunas actividades recreativas o desastres naturales como los generados por los monzones en India (20). La infección por *Leptospira* spp puede ser asintomática o evolucionar hacia un síndrome febril agudo que en algunos casos se complica con daño hepático (Síndrome de Weil), renal o hemorragia pulmonar, todas ellas potencialmente fatales (21).

En este estudio se determinó la frecuencia y severidad del compromiso hepático en niños infectados con dengue en un contexto urbano en el que la hepatitis A es prevalente y la leptospirosis, una potencial causa de síndrome febril.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Pacientes y muestras

Se realizó un estudio descriptivo que incluyó niños menores de 13 años con diagnóstico de dengue y cuadro clínico característico del período crítico (Dengue con Signos de Alarma, DSA) o complicado (Dengue Grave,

DG) de la enfermedad. Los pacientes incluidos fueron atendidos en el Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Neiva entre junio de 2009 y mayo de 2010. Fueron clasificados clínicamente usando los criterios revisados de la OMS (19). Niños con historia previa de hepatopatía o consumo de medicamentos que puedan alterar la función hepática fueron excluidos del estudio.

En todos los casos se tomaron muestras de sangre venosa para estudios hematológicos, coagulación y bioquímicos en fase aguda (3-7 día) y convaleciente (15 días) de enfermedad. Se realizó seguimiento clínico diario hasta el egreso.

Los padres o acudientes de los pacientes incluidos, firmaron un consentimiento informado aprobado por los Comités de Ética de la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana y el Hospital Universitario de Neiva.

#### Diagnóstico de dengue

Fueron incluidos todos los pacientes con cuadro clínico sugestivo de dengue. El diagnóstico fue confirmado midiendo niveles plasmáticos de IgM-DENV determinado por ELISA (Panbio, AUS), así como los niveles de la proteína viral NS1 (Panbio, AUS), en la fase aguda. La clasificación de dengue primario y secundario se realizó mediante ELISA, IgG-DENV plasmática en muestras de fase aguda y de convalecencia (Panbio, AUS).

#### Diagnóstico de leptospirosis y hepatitis A

A todos los casos se midió por ELISA el nivel de IgM plasmática específica para *Leptospira* y Hepatitis A en fase aguda y convalecencia (ambos kits de PANBIO, AUS). Para hepatitis A, se determinó además la presencia de IgG específica para el virus en fase aguda de enfermedad (Panbio, AUS).

#### Caracterización clínica

Se usó la clasificación clínica revisada de la OMS para dengue (19). Para determinar el compromiso hepático, además se usó la clasificación propuesta por De Souza y colaboradores (22).

Grado A: Niveles normales.

Grado B: Niveles elevados de 1 a 3 veces.

Grado C: Niveles elevados de 3 a 10 veces.

Grado D: Niveles mayores a 10 veces.

La recolección de los datos clínicos se realizó mediante el uso de formatos previamente diseñados y validados por el grupo.

#### Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 15 y se usaron pruebas no paramétricas. Para comparar entre dos grupos independientes, la prueba de Mann-Whitney. Para la determinación de diferencias en la frecuencia de ocurrencia de eventos se usó la prueba de Fisher.

### RESULTADOS

Fueron incluidos 108 pacientes, el 91,2 % clasificados como DSA y el 8,8 % como DG. El promedio de edad fue 5 años y 56,5 % de la serie fueron niñas.

La sintomatología predominante fue gastrointestinal y el signo clínico más frecuente en toda la serie la hepatomegalia que se presentó en 92 de los 108 casos (Tabla 1).

La ascitis, fue significativamente más frecuente en el grupo de DG, encontrándose en 50 % de ellos vs 6 % de pacientes con DSA ( $p=0,004$  en la prueba de Fisher).

El compromiso hepático (establecido por elevación de transaminasas) mostró la AST con valores más altos en una relación mayor o igual a 1,5 veces respecto a ALT para ambos grupos con diferencia estadísticamente significativa entre (DSA y DG) ( $P=0,021$ , Mann-Whitney test).

Cuando la clasificación revisada de la OMS fue usada, sólo 2 (20 %) pacientes cumplieron los criterios para hepatitis grave. Sin embargo, cuando se usó la clasificación propuesta por De Souza, el 67,5 % del total de pacientes y el 100 % de los pacientes con DG mostraron algún grado de compromiso hepático (grados B, C o D) (Tabla 2).

Los resultados en fase aguda de IgM, IgG y NS1 para dengue, IgM para *Leptospira* e IgM e IgG para Hepatitis A realizados a los 108 niños se muestran en la Tabla 3. Todos los pacientes tenían al menos 1 examen confirmatorio para dengue y 37 pacientes contaron con dos pruebas positivas (IgM DENV y NS1). En ningún caso hubo infección aguda por virus de la hepatitis A, sin embargo, el 24 % de ellos tuvo IgG positiva (Tabla 3).

**Tabla 1.** Características clínicas y paraclínicas de los pacientes incluidos en el estudio

Parámetro	DSA n=98	DG n=10
Sexo F/M	56/42	5/5
Edad <sup>+</sup>	5,02	5,4
Días de fiebre*	4 (2-5)	4 (3-6)
Hepatomegalia (%)	83	90
Dolor abdominal (%)	64	60
Vómito (%)	54	60
Derrame pleural (%)	47	100
Ascitis (%)	6	50
Infección primaria (%)	6	33
Infección secundaria (%)	89	70
AST (UI/L)*	128 (41-732)	203 (107-840)
ALT (UI/L)*	53 (18-61)	83 (24-554)
Albúmina (gr/L)*	3,3 (2,6-6,1)	3,4 (2,3-4,2)
Hematocrito (%)*	36,8 (23,3-7,9)	35,6 (28-49,6)

\*Mediana (rango), + Promedio en años, DSA: dengue con signos de alarma, DG: dengue grave, AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alaninaminotransferasa

**Tabla 2.** Grado de compromiso hepático y clasificación de dengue en 108 niños de Huila-Colombia

Clasificación <sup>a</sup>	DSA	DG	Total (%)
Grado A	35	0	32,4 (35)
Grado B	48	6	50 (54)
Grado C	15	2	15,7 (17)
Grado D	0	2	1,8 (2)
Total	98	10	100 (108)

<sup>a</sup> Clasificación sugerida por De Souza y cols (Ref. 22)

**Tabla 3.** ELISA para la detección de inmunoglobulinas patógeno-específicas en plasma tomado en la fase aguda de la enfermedad

Prueba <sup>a</sup>	Positivo		Negativo	
	n	(%)	n	(%)
NS1	40	37	68	63
IgM DENV	108	100	0	0
IgG DENV	96	89	12	11
IgM Hepatitis A	0	0	108	100
IgG Hepatitis A	26	24	82	76
IgM Leptospira	7	6	101	94

<sup>a</sup> Todas las pruebas fueron realizadas por ELISA.

La IgM fue positiva para *Leptospira* en muestra de fase aguda de 7 pacientes, en 5 de ellos se duplicó su valor en la convalecencia.

## DISCUSIÓN

La sintomatología más frecuente en este estudio fue gastrointestinal. El dolor abdominal fue considerado síntoma cardinal, identificado como signo de alarma y observado en los pacientes con DG y hepatitis, lo que confirma la importancia de la evaluación de este parámetro en pacientes con dengue. La hepatomegalia fue el hallazgo más frecuente al examen físico, encontrándose en 92 de los 108 casos.

El 10 % cursó con forma primaria de la enfermedad. El compromiso hepático mayor fue evidente en las formas secundarias. La AST tuvo los valores más altos, en una relación mayor o igual a 1.5 veces respecto a ALT para ambos grupos (DSA y DG, Tabla 1).

La frecuencia del compromiso hepático en pacientes con dengue encontrado en este estudio (67,5 %) fue comparable al reportado por De Souza, quien muestra 65,2 % de pacientes afectados (22).

En Brasil, un estudio de 9 casos de mortalidad por hepatitis fulminante con choque demostró la presencia del virus dengue en los hepatocitos y en las células de Kupffer en más del 90 % de los casos, con escasa reacción inflamatoria, necrosis hepática masiva, hepatitis aguda paucicelular y baja producción de TNF $\alpha$  e IL-2 (23). Un estudio en Tailandia también describe al virus del dengue como la principal causa de hepatitis fulminante en niños entre 1 y 15 años, a pesar de ser una región donde la incidencia de virus de la hepatitis A y B es alta (24).

Estudios con líneas celulares y datos provenientes de autopsias sugieren que el hepatocito y la célula de Kupffer no sólo sufren efectos secundarios por el compromiso sistémico de la enfermedad (25) sino que se convierten en células blanco en las cuales el virus se replica, guardando semejanza con lo observado en fiebre amarilla (11,12).

La clasificación revisada de dengue de la OMS tuvo en cuenta la disfunción de órgano como criterio de severidad, siendo el compromiso hepático la organopatía más frecuente (19). Algunas pruebas bioquímicas de función hepática permiten clasificar el grado de compromiso de este órgano, como ha sido planteado por la OMS y en el Brasil por De Souza (13,19).

Actualmente es controversial la relación entre severidad del dengue y el compromiso hepático, y es tema de debate si la gravedad es dada por efecto directo del virus o como una consecuencia de la hipoxemia secundaria al choque hipovolémico (26). Múltiples estudios han demostrado la capacidad del virus de infectar el hepatocito y la célula de Kupffer (27-30) encontrándose el virus en especímenes posmortem mediante inmuno histoquímica o RT-PCR. Un estudio en Vietnam encontró pacientes con compromiso hepático severo que ingresaron a cuidado intensivo y no presentaron hipotensión (25). Esta situación es comparable a la que se encontró en este estudio en el que los dos niños con hepatitis grave no cursaron con choque (Tabla 2); este hecho apoyaría la hipótesis que el hígado puede ser el blanco directo de la

infección viral, como se ha demostrado en el caso del miocardio (32). Así pues, el compromiso hepático no se debe sólo a los efectos sistémicos del choque (10), la hemorragia, la acidosis metabólica, la toxicidad por ingesta de medicamentos (como por ejemplo acetaminofén, salicilatos) o el daño hepático preexistente.

En la clasificación revisada de dengue de la OMS se define hepatitis como valores de transaminasas mayores a 1,000 UI/L (6).

La disfunción hepática, representada en elevación de transaminasas, es un hallazgo frecuente en pacientes con DSA y DG.S in embargo, las cifras de estas enzimas planteadas por la OMS para clasificar un caso como DG se encuentran muy por encima de los niveles encontrados en diferentes estudios, incluido éste, lo que podría estar generando dificultades para cuantificar el impacto hepático real que potencialmente requeriría intervención, considerando que las cifras establecidas por OMS se encuentran muy por encima de la definición internacional de hepatitis (33).

Se espera que este estudio alerte al personal que atiende pacientes en zonas endémicas de dengue para que el compromiso hepático sea evaluado tempranamente, determinando los valores de transaminasas que se aproximen a la definición global de hepatitis, en la que se encuentran cifras mucho menores a las planteados por la OMS para dengue. Además, estimular a la comunidad científica para buscar cifras más ajustadas a la realidad del compromiso hepático en dengue.

Se resalta el hallazgo de IgM positiva para leptospira en 7 casos (6 %) considerando que estudios previos, mencionan a Colombia como un país de baja incidencia de sólo 1.6 casos anuales por millón de habitantes (34), aunque algunos autores colombianos, han identificado prevalencia de *Leptospira* en valores que varían entre 5,2 % a 60,9 % (31-35). En diferentes regiones del mundo, se muestra una seroprevalencia general que oscila entre 51 % en Somalia, 43 % en Barbados, 33 % en India, 31 % en Detroit, E.U.A., 31 % en Bolivia, 21 % en España, 16% en Corea, 16 % en Baltimore, E.U.A. y 12 % en Italia (36). Reportes específicos pediátricos existen por ejemplo en India donde se encontró seroprevalencia a los 5 años de 11.4 %, de los 5 a 10 años de 12.1 % y de 18.1 % de 10 a 20 años, con síntomas leves (37).

Los resultados colocan a la leptospirosis como una enfermedad infecciosa que debe ser tenida en cuenta localmente en niños con síndrome febril o



compromiso hepático. Además estos resultados deben servir para incentivar el cumplimiento de los sistemas de vigilancia y reporte de la leptospirosis.

Por otra parte, puede haber coinfección virus dengue *Leptospira* en el paciente pediátrico en Colombia. Así mismo, las alteraciones hepáticas clínicas y bioquímicas son muy frecuentes en la infección con DENV en la población pediátrica del sur de Colombia.

Sería adecuado reevaluar los valores de transaminasas que definan el compromiso hepático severo en dengue y con ello aumentar la sensibilidad de la definición de “compromiso de órganos” establecida en la clasificación vigente de la OMS.

Se hace evidente la necesidad de disponer de pruebas diagnósticas que faciliten establecer etiologías diferenciales como la leptospirosis para instaurar tratamientos específicos, como antibióticos ♣

**Agradecimientos:** A los niños y acudientes que participaron en el mismo, al igual que al personal del Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Neiva. Este proyecto fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación y Proyección social de la Universidad Surcolombiana y por Colciencias mediante el proyecto AEDES.

## REFERENCIAS

1. San Martin J, Brathwaite O, Zambrano B. The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades a worrisome reality. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 82: 128–135.
2. Guzman M, Halstead S, ArtsobH, Buchy P, Farrar J. Dengue: a continuing global threat. *Nature reviews microbiology evaluating diagnostic.* *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(12 Suppl):S7-16.
3. SuchitraRanjit, Niranjankissoon. Dengue hemorrhagic fever and shock syndromes. *Pediatr Crit Care Med.* 2011; 12 (1): 1-10.
4. SIVIGILA. Instituto Nacional de Salud. Colombia. 2000-2009. [Internet] <http://www.sivigila.ins.gov.co>. Consultado junio 2010.
- 5- Ministerio de la Protección Social. Instituto Nacional de Salud. Colombia. *Boletín Epidemiológico;* 2010;52:11.
6. Nimmannitya S, Thisyakorn U, Hemsrichart V. Dengue haemorrhagic fever with unusual manifestations. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1987;18(3):398-406.
7. Mohan B, Patwari A. Hepatic dysfunction in childhood dengue infection. *J Trop Pediatr.* 2000 Feb; 46(1):40-3.
8. Bhamarapravati N. Pathology of dengue infections in Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. Wallingford, UK: CAB International; 1997. pp. 115-132.
9. Lei H, Yeh T Liu H, Lin Y, Chen S. Immuno pathogenesis of dengue virus infection. *J Biomed Sci.* 2001; 8:377-88.
10. Nguye TL, Nguyen TH, Tieu NT. The impact of dengue hemorrhagic fever on liver function. *Res Virol.* 1997; 148: 273-77.

11. Huerre MR, Lan N, Marianneau P, Hue N, Khun H, Hung N. Liver histopathology and biological correlates in five cases of fatal dengue fever in Vietnamese's children. *Virchows Arch.* 2001; 438: 107-15.
12. Fabre A, Couverland a, Degott C, Lagorce-Pages C. Dengue virus induced Hepatitis with chronic calcific changes. *Gut.* 2001; 49: 864-65.
13. Kuo C, Tai DI, Chang-Chieng Lan, C-K. Liver biochemical test and dengue Fever. *Am J Trop Med Hyg.* 1992; 47: 265- 70.
14. Kuo CH, Tai DI, Chang-Chien CS, Lan CK, Chiou SS, Liaw YF. Liver biochemical tests and dengue fever. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1992; 62: 682-692.
15. Wills B, DinhThe T. Liver involvement associated with dengue infection in adults in Vietnam. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 83:774-80.
16. Alishah H, Om P. Severity of acute hepatitis and its outcome in patients with dengue fever in a tertiary care hospital Karachi, Pakistan. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10:43.
17. Valero C N, Reyes V I, Larreal E Y, Maldonado E M. Aminotransferases serum level in patients with dengue type 3. *Rev Med Chil.* 2007; 135:1304-12.
18. Larreal Y, Valero N. Estevez J, Reyes I, Maldonado M, Espina LM, Arias J, Melean E, Añez G, Atencion R. Hepatic alterations in patients with dengue. *Invest Clin.* 2005 Jun; 46(2):169-78.
19. World Health Organization issues: new dengue guidelines. [Internet] Available at <http://apps.who.int/tdr/svc/publications/tdrnews/issue-85/tdr-briefly>. Accessed July 1, 2010.
20. Victoriano AF, Smythe L D, Gloriani-Barzaga Leptospirosis in the Asia Pacific region. *BMC. BMC Infect Dis.* 2009. 4; 9:147.
21. Navarrete-Espinosa J, Acevedo-Vales JA, Huerta-Hernández E, Torres-Barranca J, Gavaldón-Rosas DG. Prevalence of dengue and leptospira antibodies in the state of Veracruz, Mexico. *SaludPublica Mex.* 2006; 48(3):220-8.
22. De Souza LJ, Alves JG. Aminotransferase changes and acute hepatitis in patients with dengue fever: analysis of 1,585 cases. *Braz J Infect Dis.* 2004; 8(2):156-163.
23. De Macedo FC, Nicol AF, Cooper LD, Yearsley M, Pires AR, Nuovo GJ. Histologic, viral, and molecular correlates of dengue fever infection of the liver using highly sensitive Immuno histochemistry. *Diagn Mol Pathol.* 2006; 15:223-8.
24. Poovorawan Y, Hutagalung Y, Chongsrisawat V, Boudville I, Bock HL. Dengue virus infection: a major cause of acute hepatic failure in Thai children. *Ann Trop Paediatr.* 2006; 26:17-23
25. Trung DT, Thao le TT, Hien TT, Hung NT, Vinh NN, Hien PT, Chinh NT, Simmons C, Wills B. Liver involvement associated with dengue infection in adults in Vietnam. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(4):774-80.
26. World Health Organization Dengue Bulletin. South-East Asia Region. Western Pacific Region, 2009, Vol 33. [Internet] Available at. [http://www.wpro.who.int/mvp/epidemiology/dengue/Dengue\\_Bulletin\\_Vol36.pdf](http://www.wpro.who.int/mvp/epidemiology/dengue/Dengue_Bulletin_Vol36.pdf). Accessed July 1, 2010.
27. Burke T. Dengue haemorrhagic fever: a pathological study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1968; 62: 682-692.
28. Rosen L, Khin, M.M, Tin U. Recovery of virus from the liver of children with fatal dengue: reflections on the pathogenesis of the disease and its possible analogy with that of yellow fever. *Res. Virol.* 1989; 140: 351-36.
29. Sumarmo W.H, Jahja E, Gubler D, Suharyono W, Sorensen K. Clinical observations on virologically confirmed fatal dengue infections in Jakarta, Indonesia. *Bull. W H O.* 1983; 61, 693-701.
30. Rosen L, Drouet, M.T, Deubel V. Detection of dengue viral RNA by reverse transcription-polymerase chain reaction in the liver and lymphoid but not in the brain in fatal human infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999; 61: 720-724
31. Ferro B y Rodríguez AL. Seroprevalencia de infección por leptospira en habitantes de barrios periféricos de Cali. *Biomédica.* 2006; 26: 250-7.

32. Salgado D, Eltit JM, Mansfield K. Heart and Skeletal Muscle Are Targets of Dengue Virus Infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2010; 29(3): 238–242.
33. Kim W, Flamm S, Di Bisceglie, Bodenheimer H. Serum activity of alaninaminotransferas (ALT) as an indacator of health and disease. *Hepatology*. 2008 Apr;47(4):1363-70.
34. Ochoa J, Sánchez A, Ruiz I. Epidemiologia de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Infectio*. 2001; 7:325-31.
35. Góngora A.; Parra J.; Aponte L Y Gómez L. Seroprevalencia de *Leptospira* spp. En grupos de población de Villavicencio, Colombia. *Rev. Salud Pub*. 2008; 10 : 269-278.
36. Zunino E, Pizarro R. Leptospirosis: Puesta al día. *Rev Chil Infect*. 2007; 24(3): 220-226.
37. Tullu MS, Karande S. Leptospirosis in children: A review for family physicians. *Indian J Med Sci*. 2009; 63: 368-78.