



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIVERSIDAD VERACRUZANA
DEPARTAMENTO DE ESTUDIOS DE
POSTGRADO**



**DIRECCIÓN REGIONAL SUR
DELEGACIÓN VERACRUZ NORTE
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR No. 61**

**“SENSIBILIDAD DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS
PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DEL DENGUE”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL POSTGRADO EN LA
ESPECIALIDAD DE**

MEDICINA FAMILIAR

PRESENTA

DR. EDUARDO IVÁN PANTOJA RODRÍGUEZ

Médico residente de medicina familiar, adscrito a la
Unidad de Medicina Familiar No. 61

INVESTIGADOR RESPONSABLE

DRA. ZITA ALTAGRACIA FERNÁNDEZ GARCÍA

FEBRERO 2014

“SENSIBILIDAD DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA LA DETECCIÓN TEMPRANA DEL DENGUE”

Número de registro del comité local de investigación en salud

R-2013-3003-31

Autor:

Dr. Eduardo Iván Pantoja Rodríguez

Coautor:

Dra. Zita Altagracia Fernández García

Autorización

Dra. Edith Guillén Salomón

Coordinador clínico de educación e investigación en salud



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



"2013, Año de la Lealtad Institucional y Centenario del Ejército Mexicano"

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3003
U MED FAMILIAR NUM 61, VERACRUZ NORTE

FECHA 31/12/2013

DRA. ANGELICA OCHOA SOSA

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

SENSIBILIDAD DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LA DETECCION TEMPRANA DEL DENGUE

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2013-3003-31

ATENTAMENTE

DR.(A). MARGARITO LEÓN CABAL

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3003

Imprimir

IMSS

SEGURIDAD Y SALUD SOCIAL

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que me ha permitido cumplir una más de mis metas.

A mis padres Rosa y Filiberto, a quienes les comparto este logro que no habría sido posible sin el apoyo, tenacidad, comprensión y muestras de cariño que sólo ellos saben otorgar; esas dos personas que no me puedo permitir defraudar.

A mis hermanos Sandra, Nena y Beto, que con sus ejemplos individuales de superación, inculcaron en mi la exigencia de ser profesionista.

A mis profesores, agradeciéndoles sus enseñanzas, experiencias y consejos durante estos años de conocernos.

A mis amigos, esa otra familia a la que te unes con el tiempo y que están ahí para apoyar, a pesar de los sinsabores.

A todos, gracias.

INDICE

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
MARCO TEORICO.....	8
METODOLOGIA.....	12
RESULTADOS.....	13
DISCUSION.....	18
CONCLUSION.....	19
BIBLIOGRAFIA.....	20
ANEXOS.....	23

RESUMEN

Título. Sensibilidad de las pruebas serológicas para la detección temprana del dengue.

Objetivo. Determinar la sensibilidad de las pruebas serológicas para la detección temprana del dengue.

Metodología. Se realizó un estudio observacional, transversal, retrospectivo y analítico del departamento de Epidemiología de la UMF 61, de Veracruz, de casos confirmados de Fiebre por Dengue, para las pruebas serológicas de NS1 e IgM; como patrón de Oro la confirmación por clínica y exámenes de laboratorio. De los años 2010 al 2012, se recolecto las variables edad, género, plaquetas además de las pruebas mencionadas. Se analizó con pruebas de sensibilidad y especificidad, valores predictivos positivo y negativo; además de Razón de Verosimilitud positiva y Negativa, con IC 95%.

Resultados. Se recolectaron 710 pacientes con diagnóstico de dengue, de los cuales se eliminaron 58; con edad promedio de 32 ± 18 años, y 50% (327), pertenecían al género masculino; con recuento de plaquetas menor a 50,000 fueron 31.5% (206), Los resultados de la prueba diagnóstica para NS1 fueron sensibilidad 85% (IC 95% 80.5-88.4), valor predictivo positivo de 50% (IC 95% 45.8%-54.2%); asimismo los resultados de la prueba diagnóstica para IgM fueron en sensibilidad 73% (IC 95% 65.5-79.6), el valor predictivo positivo fue 20% (IC 95% 17.1-23.9).

Conclusión. La prueba NS1 presentó mejor sensibilidad que la IgM y las demás pruebas diagnósticas se hallaron bajas.

Palabras clave. Fiebre por dengue-NS1-IgM

ABSTRACT

Title. Sensitivity of serological tests for the early detection of dengue.

Objective. To determine the sensitivity of serological tests for the early detection of dengue.

Methodology. An observational, cross-sectional, retrospective and analytical study of the Department of Epidemiology, UMF 61, of Veracruz, was made of confirmed Dengue Fever, for serological testing of NS1 and IgM cases, as the gold standard for clinical and confirmation tests laboratory. From the years 2010 to 2012, the variables age, gender, platelet addition to the evidence mentioned was collected. Were analyzed with test sensitivity and specificity, positive and negative predictive values , besides Likelihood ratio positive and negative, with 95 %.

Results. Mean age 32 ± 18 , and 50 % (327) belonged to the male gender, with counts less than 50,000 platelets were 31.5 % (206) 710 patients diagnosed with dengue, which removed were collected, the results of the diagnostic test for NS1 sensitivity was 85 % (95% CI 80.5-88.4), positive predictive value of 50 % (95% CI 45.8 % -54.2 %), also the results of the diagnostic test for IgM were in sensitivity 73 % (95% CI 65.5-79.6), positive predictive value was 20 % (95% CI 17.1-23.9).

Conclusion. The NS1 test had better sensitivity than IgM and other diagnostic tests are found low.

Keywords. Dengue fever -NS1 -IgM

MARCO TEORICO

El virus del dengue es el principal arbovirus causante de enfermedad del dengue en los humanos, que es una virosis aguda y sistémica, de transmisión vectorial, reemergente. El periodo de incubación es de 3 a 14 días, por lo general es de 7 a 10. El hombre, junto con el mosquito, puede constituir un reservorio en Asia y África¹

El dengue es una enfermedad febril infecciosa, de etiología viral sistémica (virus Denv-1, Denv-2, Denv-3 y Denv-4), transmitida por mosquitos hembras del género *Aedes sp*, de presentación clínica variable, evolución poco predecible, autolimitada y temporalmente incapacitante.²

Se reconocen cuatro fases de la enfermedad: la fase de incubación, de tres a diez días; la fase febril, de dos a siete días; la fase crítica (fuga plasmática) entre el tercer y séptimo día de inicio de la fiebre; y la fase de recuperación (reabsorción de líquidos) entre el séptimo y décimo día. La variabilidad clínica está relacionada con la respuesta inmunológica del huésped a la infección, la comorbilidad y los factores de riesgo presentes, la exposición previa a la enfermedad, y la virulencia de la cepa viral.²

Es transmitido al humano a través de la picadura de la hembra hematófaga de los mosquitos *Aedes (aegypti y albopictus)*. Se conocen además, otras variedades de *Aedes*: *Ae. Aegypti var. formosus* y *Ae. Aegypti var. queenslandensis*. *Ae. Albopictus*, *Ae. Polyniensis* y otras especies del complejo *Ae. scutellaris* han sido incriminados como responsables de pandemias, pero menos eficientes que *A. aegypti*. La hembra deposita sus huevos en recipientes con agua estancada, limpia y a la sombra. Estos huevecillos pueden ser vistos a simple vista, pues forman un anillo junto a las paredes internas de los recipientes, a la altura del nivel del agua.²

Según la Organización Mundial de la Salud, 2500 millones de personas (dos quintos de la población mundial) corren el riesgo de contraer la enfermedad; en los últimos años el comportamiento epidemiológico del dengue en México ha mostrado un perfil irregular, con incrementos y disminuciones de las tasas anuales

de morbilidad.³

El Dengue representa un grave problema de salud pública en el mundo. La primera epidemia de dengue hemorrágico en América ocurrió en Cuba en 1981⁴ y en México fue en 1995 con 539 casos,⁵ aunque los primeros casos reportados fueron de Tapachula, Chiapas en 1978⁶ y poco después en Mérida, Yucatán en 1984.

Para éste año, según en la información epidemiológica publicada por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), Veracruz se encuentra en el primer lugar de casos confirmados a nivel nacional con un total para la semana epidemiológica 42 del año 2013 de 6196 casos con un incremento semanal de 53.1%. Se relacionan a estos casos la identificación mayormente con el serotipo 2 con un total de 279 y el serotipo 1 con 140 casos. Reportándose en lo que va del año 15 defunciones en esta entidad.⁷

Así, dentro de los genomas y las proteínas estructurales del virus que originan su virulencia se muestra que el virión maduro contiene 3 proteínas estructurales: C, proteína de la nucleocápside o núcleo; M, proteína asociada a la membrana y E, proteína de la envoltura. Los virus inmaduros contienen una proteína conocida por prM; que es un precursor de M.^{8, 9} De las proteínas virales no estructurales (NS) se sabe que son siete las cuales fueron identificadas y se confeccionaron mapas del ARN viral deducido para la secuencia aminoácida.¹⁰ La primera proteína no estructural (NS1), que contiene 2 señales del tipo Asn-X-Ser/Thr, usada para la adición de carbohidratos, estos sitios parecen estar conservados en todos los flavivirus. Puede estar en forma secretada y no secretada.¹¹ La función de la NS1 en la replicación viral no ha sido bien dilucidada. Se ha planteado que posee un papel en la replicación temprana. Basada en análisis mutacional se ha relacionado con la morfogénesis viral. A su vez, mutaciones de esta proteína afectan la virulencia de la partícula viral. También se relaciona con la respuesta inmune específica de serotipo.¹²

La detección de la proteína viral NS1 podría solucionar parte del problema en el diagnóstico de dengue. Esta proteína viral es una glucoproteína de 48 kDa, sintetizada en el retículo endoplasmático rugoso de las células infectadas en forma de

monómero y que posteriormente se dimeriza para asociarse a balsas lipídicas (*rafts*) de la membrana plasmática o estar soluble en el citoplasma y en el espacio extracelular, lo que induce la estimulación del sistema inmunitario. Sus funciones no están bien determinadas, aunque se cree que está implicada en la replicación temprana, la morfogénesis viral y en la respuesta inmunitaria específica de serotipo. Además, se ha podido establecer una relación de los niveles altos de proteína NS1 en el suero de pacientes en fase aguda con la evolución de las formas graves de la enfermedad.¹³

Asimismo los anticuerpos IgM se desarrollan rápidamente después de la detección, se han utilizado en la fase aguda y es el método de elección por su economía, sencillez y relativa rapidez. Es de gran utilidad para el trabajo durante epidemias y constituye el sistema de elección para la vigilancia sero-epidemiológica ya que tiene una elevada sensibilidad y especificidad, sin embargo, no permite identificar los serotipos circulantes. Permite un diagnóstico rápido empleando una sola muestra colectada en fase aguda, el diagnóstico temprano de esta enfermedad se puede mejorar, si se colecta una segunda muestra alrededor del séptimo día de iniciados los síntomas.^{14, 15}

En base a lo anterior el diagnóstico de la enfermedad puede basarse en la detección de virus durante la fase aguda, que va del día cero hasta el cuarto o quinto día de enfermedad, en muestras de suero, plasma, células sanguíneas o tejidos. Esto se hace mediante técnicas para aislamiento viral, detección de ARN viral o antígenos, como la proteína viral no estructural NS1. Por otro lado, la serología es el método de elección al final de la fase aguda o en la fase de convalecencia, debido a que la producción de anticuerpos varía según el sistema inmunitario del huésped y si se trata de una primoinfección o de una reinfección con un serotipo heterólogo. En caso de una primoinfección, se desarrolla una respuesta primaria con aparición lenta de IgM. Estos anticuerpos se detectan, aproximadamente, en 50 % de los pacientes entre tres y cinco días después del inicio de la enfermedad, aumenta a 80 % hacia el quinto día y, en 99 %, hacia el décimo día de iniciada la fiebre, para descender a niveles indetectables al tercer mes después de la infección.¹⁶ En la actualidad, existen kits comerciales basados

en la técnica ELISA para la detección de la proteína NS1, fáciles de utilizar, con equipos comunes y resultados rápidos, que permiten confirmar la infección en suero o plasma, incluso durante los tres primeros días de iniciada la fiebre, periodo en el cual la prueba tiene una sensibilidad que oscila entre 64 y 100 % y una especificidad de 100 %. En este mismo periodo, la prueba ELISA para IgM específica tiene una sensibilidad entre 0 y 50%.¹⁷ La prueba de reacción de polimerasa en cadena (PCR) además de su alto costo es poco efectiva en la detección temprana del Dengue, sin embargo el IgM es con frecuencia utilizada en nuestro medio para detectar la infección aunque algunos autores la reportan como baja sensibilidad.¹⁸

La aparición de síntomas del dengue se caracteriza por la presencia del antígeno NS1 (dengue) en el suero del paciente. NS1 es una glicoproteína común a todos los serotipos del dengue y se la puede utilizar para detectar infecciones primarias o secundarias en las primeras etapas de la enfermedad. Las pruebas serológicas para los anticuerpos específicos al dengue, tipos IgG e IgM, pueden ser útiles para confirmar el diagnóstico primario o secundario. En las infecciones primarias y secundarias, IgM se presenta después de aproximadamente 5 días; mientras que IgG se produce entre 2 y 4 semanas después de la aparición de la infección primaria y casi inmediatamente después de la aparición de una infección secundaria.¹⁹

El principal reto asociado al tratamiento de los pacientes infectados es la rapidez y la especificidad de la detección del virus del dengue durante la fase aguda, con el objeto de aplicar un tratamiento eficaz lo antes posible. Recientemente, la detección de la proteína viral no estructural NS1 en el suero de los pacientes ha sido descrita como un método alternativo para el diagnóstico precoz de la infección con una sensibilidad del 95%. El antígeno NS1 se encuentra en la circulación desde el primero hasta el sexto día siguiente a la aparición de la fiebre y los índices observados son comparables en las formas primarias y secundarias de la infección.²⁰

Por otra parte la prueba IgM considera ciertas limitaciones como la baja sensibilidad entre el 1ro y cuarto días; y que es 100% sensible solo al final de la fase febril.²¹

METODOLOGIA

Mediante un estudio observacional, transversal y retrospectivo se seleccionaron los datos reportados de los años 2010 al 2012 con diagnóstico de dengue, de los reportes epidemiológicos de la Unidad de Medicina Familiar 61, y que se hayan confirmado, completado los datos con expedientes clínicos del Archivo, donde se recolectaron las variables del estudio que fueron la edad, género del paciente y los resultados de las pruebas NS1 e IgM cuyos resultados fueron positivo o negativo, que se puedan contabilizar los días en que iniciaron los síntomas y la toma de muestra, ya que esta es sensible en los primeros cinco días; y una vez identificadas las variables del estudio; se tomó como patrón de Oro a la confirmación del diagnóstico de dengue mediante la integración de la clínica y exámenes de laboratorio que además que tengan los expedientes el recuento de plaquetas cuyos valores normales oscilan entre 150,000 y 400,000 por mm^3 (Anexo 1). Se incluyeron pacientes con reporte diagnóstico de Dengue, atendidos en la UMF 61 y con reportes serológicos; se excluyeron expedientes incompletos o casos de dengue no confirmados con certeza diagnóstica. El muestreo fue no probabilístico por las características del estudio y en el tamaño de muestra de acuerdo a resultados de 3 años retroactivos. Se codificó en Excel 2010 para su análisis no necesitando Consentimiento Informado. El análisis estadístico fue con medidas de tendencia central, frecuencias absolutas y relativas, además con pruebas diagnósticas con IC al 95%.

RESULTADOS

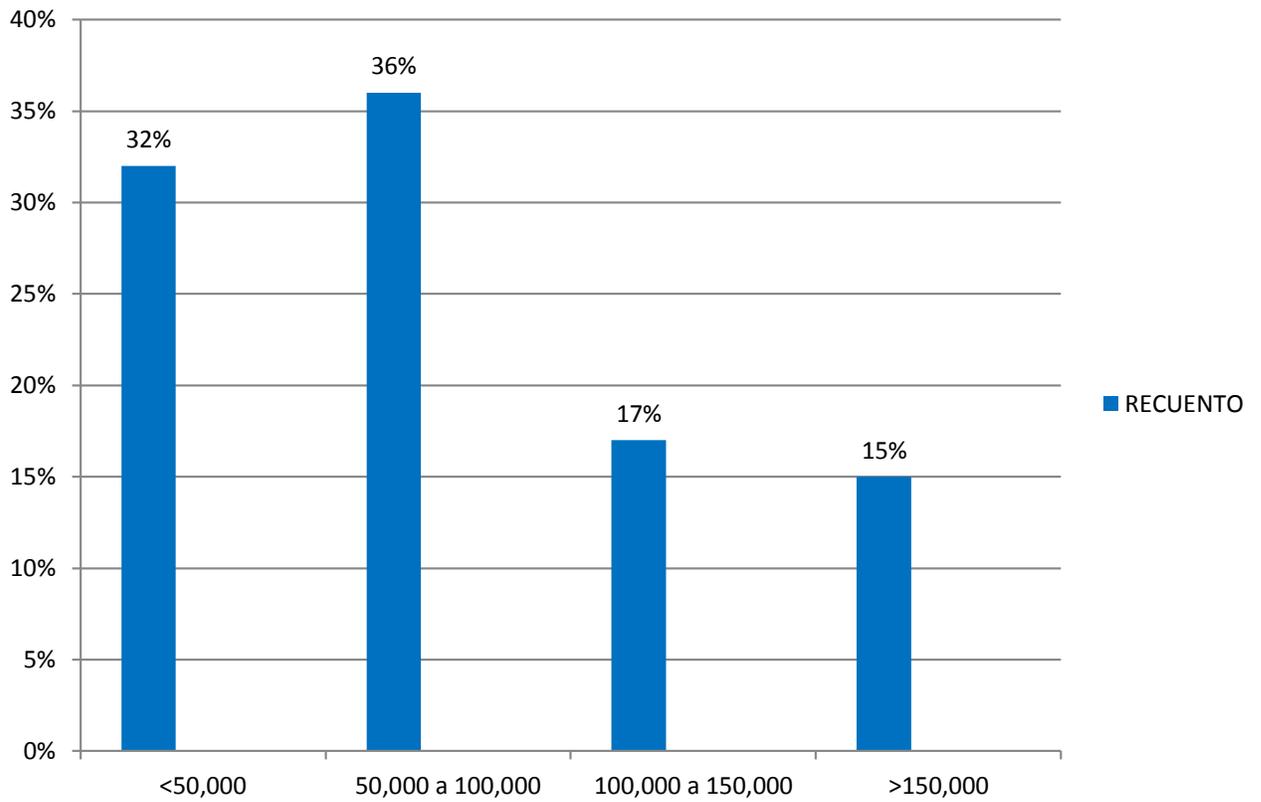
Se recolectaron 710 pacientes con diagnóstico de dengue, de los cuales se eliminaron 58 y fueron en total 652; 325 pertenecían al género masculino y 327 femeninos; la mediana de edad para hombres fue de 31 años y en mujeres fue de 33.8 años con recuento de plaquetas menor a 50,000 fueron 31.5% (206), de 50,000 a 100,000 36.1% (236), el resto se observa en la tabla gráfica 1.

Los resultados de la prueba diagnóstica para NS1 fueron sensibilidad 85% (IC 95% 80.5-88.4), valor predictivo positivo de 50% (IC 95% 45.8%-54.2%); los detalles se muestran en el cuadro I y gráfica 2.

Asimismo los resultados de la prueba diagnóstica para IgM fueron en sensibilidad 73% (IC 95% 65.5-79.6), el valor predictivo positivo fue 20% (IC 95% 17.1-23.9), el resto de las pruebas se muestran en el Cuadro II.

GRAFICA 1

RECUENTO DE PLAQUETAS EN PACIENTES CON FIEBRE POR DENGUE



Fuente: archivo de Epidemiología UMF 61

CUADRO I
PRUEBAS DIAGNOSTICAS
PARA DIAGNOSTICAR FIEBRE
POR DENGUE DE NS1

PRUEBA	RESULTADO	IC 95%
SENSIBILIDAD	85%	80.5 – 88.4
ESPECIFICIDAD	20%	15.8-24.3
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	50%	45.8 – 54.2
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	58%	48.7 – 66.6
RAZÓN DE VEROSIMILITUD POSTIVA	1.06	0.93 – 1.13
RAZÓN DE VEROSIMILITUD NEGATIVA	0.77	0.56 – 1.05
PROPORCIÓN DE FALSOS POSITIVOS	80%	75.7 – 84.2
PROPORCIÓN DE FALSOS NEGATIVOS	15%	11.6 - 19.5

Fuente: archivo de Epidemiología UMF 61

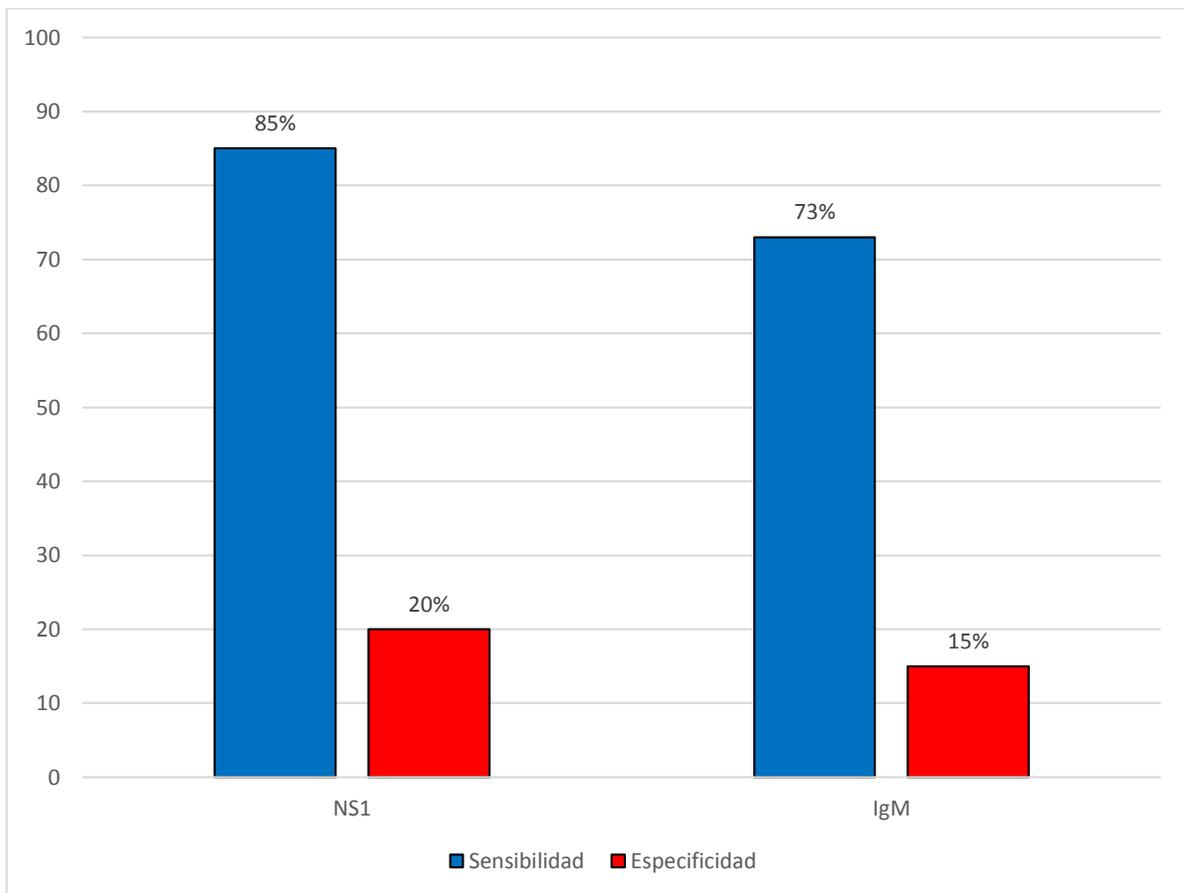
CUADRO I
PRUEBAS DIAGNOSTICAS
PARA DIAGNOSTICAR FIEBRE
POR DENGUE DE IgM

PRUEBA	RESULTADO	IC 95%
SENSIBILIDAD	73%	65.5 – 79.6
ESPECIFICIDAD	15%	11.9 - 18.1
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	20%	17.1 – 23.9
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	65%	55.8 – 73.1
RAZÓN DE VEROSIMILITUD POSTIVA	0.86	0.77 – 0.95
RAZÓN DE VEROSIMILITUD NEGATIVA	1.82	1.31 – 2.55
PROPORCIÓN DE FALSOS POSITIVOS	85%	81.9 – 88.1
PROPORCIÓN DE FALSOS NEGATIVOS	27%	20.4 – 34.5

Fuente: archivo de Epidemiología UMF 61

GRAFICA 2

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE NS1 E IgM



DISCUSION

En este estudio se recabaron pruebas serológicas de 3 años de detección de la fiebre por dengue, que en 100 pacientes no se lograron tener los resultados, y en los demás presentaron una edad promedio de 32 años, y las muestras se tomaron en promedio de 5 días por paciente, ya que se conoce la importancia de la toma de la muestra durante los primeros 3 días después de iniciada la fiebre porque permite que se detecte una mayor carga viral, la toma de la muestra en este periodo favorece también el aislamiento viral, ya que se sabe que la elevación de la concentración de los anticuerpos IgM o IgG después del cuarto día de iniciada la fiebre puede disminuir la carga.²² El descenso de las plaquetas presentado en este estudio se dio en más del 50% menor a 100,000; lo que hace referir la sospecha de dengue hemorrágico, pero no evoluciono a tal; por lo que las pruebas realizada y notificada fueron al 5to. día promedio y sin otro reporte más de plaquetas. Los falsos negativos en las pruebas de IgM fueron 27% a diferencia de lo reportado en un estudio en la India, 65,4 % de falsos negativos en la prueba ELISA para IgM específica de dengue, los cuales sí fueron detectados por ELISA para NS1 dentro de los primeros tres días del inicio de la fiebre. Se estableció que para esta fase de la enfermedad, la sensibilidad de la prueba para NS1 estaba entre 71 y 100 %, mientras que para la prueba ELISA para IgM fue de 0 a 50 %. ²³ En nuestra investigación, la sensibilidad para NS1 fue de 85%, y para IgM de 73%, mucho mayor esta última en comparación con el anterior estudio.

Estas pruebas han sido evaluadas en diferentes poblaciones de América y el mundo. Por ejemplo, en Brasil se encontró una sensibilidad de 95,5 % y una especificidad de 81,1 %, resultados similares a los reportados por Guzmán, *et al.*²⁴ en muestras de pacientes provenientes de Tailandia, Filipinas, Vietnam, Malasia, Nicaragua y Venezuela, quienes notificaron una sensibilidad de 66% y una especificidad de 100%.²⁵ Aunque no se conocen valores predictivos, debido a que se halla en fase endémica en ocasiones esta enfermedad y nos pueden falsear resultados como en nuestra investigación que la prueba de NS1 alcanzó un valor predictivo positivo de 50% y para IgM de 20%.

En un estudio multicéntrico realizado en Asia y América observaron que la prueba NS1 mostro una sensibilidad mediana de 64% (rango de 34-76%), y una especificidad de 100% para el diagnóstico del Dengue. Sugiriendo que para mejorar la sensibilidad en este diagnóstico mejoro con la adhesión de la prueba de detección de IgM en los primeros días de fiebre.²⁶.

En otros estudios se comparó la detección de anticuerpos IgM con antígeno NS1 para el diagnóstico del dengue en 87 muestras en donde el antígeno NS1 se pudo detectar con una buena sensibilidad (71-100 %) hasta el día 3 de la fiebre, mientras que IgM tuvo una sensibilidad del 0 % al 50 % en este momento que es inferior a la reportada en nuestro estudio. En el día 4 de la enfermedad, tanto en el ensayo tenían sensibilidad semejante; más allá de 4 días, la detección de anticuerpos IgM fue superior a la de NS1²⁷ que en el nuestro la prueba NS1 fue superior a la prueba de IgM.

Conclusión. Todo esto ha generado la necesidad de estandarizar una prueba que sea de fácil y rápida ejecución, con resultados sensibles y específicos en los primeros días de la enfermedad, durante la fase febril, cuando los síntomas son inespecíficos, lo cual permite un diagnóstico diferencial con otras enfermedades que cursan también con fiebre temprana, para establecer pautas de manejo que eviten las complicaciones o la muerte; hasta el momento las pruebas con que contamos como el NS1 y la de IgM presentaron resultados similares a la literatura consultada, y solo con una diferencia mayor para NS1.

Se debe tener en cuenta la realización de un estudio similar con un número mayor de pacientes a fin de obtener un resultado con mayor validez estadística.

BIBLIOGRAFIA

1. Myriam L. Velandia¹, Jaime E. Castellanos. Virus del Dengue: Estructura y Ciclo Vital. Asociación Colombiana de Infectología. Infectio. 2011; 15(1): 33-43
2. Guía de Práctica Clínica: Manejo del dengue no grave y el dengue grave
3. Germán Fajardo-Dolci, y cols., El dengue en México. Conocer para mejorar la calidad de la atención, Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2012; 50 (6): 631-639
4. Méndez A, González G. Dengue hemorrágico en niños: diez años de experiencia clínica. Biomed. 2003; 23:180–93.
5. Escobar–Mesa J, Gómez–Dantés H. Determinantes de la transmisión de dengue en Veracruz: un abordaje ecológico para su control. Salud Pública Mex. 2003; 45: 43–53.
6. Narro-Robles J, Gómez-Dantés H. El dengue en México: un problema prioritario de salud pública. Salud Pública Méx 1995; 37 supl: 12-20.
7. SINAVE/DGE/SALUD/Sistema Especial de Vigilancia Epidemiológica de Dengue. Información publicada en la Semana Epidemiológica 42 (Actualizada al 21 de Octubre de 2013).
8. Henchal EA, Putnak JR. The Dengue viruses. Clin Microbiol Rev 1990; 3:376-96.
9. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Salas R, Villalobos I, de Chacon, *et al.* Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. J Virol 1999; 73:4738-47).
10. Valle RP, Falgout B. Mutagenesis of the NS3 Protease of Dengue Virus Type 2. J Virol 1998; 72: 624-32.
11. Mandl CW, Guirakhoo F, Holzmann H, Heinz FX, Kunz C. Antigenic structure of the flavivirus envelope protein E at the molecular level, using tick borne encephalitis virus as a model. J Virol 1989; 63:564-71.
12. Pletnev AG, Pletnev AG, Bray M, Lai CJ. Chimeric tickborne encephalitis and Dengue type 4 viruses: effects of mutations on neurovirulence in mice. J Virol 1993; 67:4956-63.

13. Acosta C, Gómez I. Biología y métodos diagnósticos del dengue. *Rev Biomed*. 2005; 16:113-37.
14. Dengue y Dengue Hemorrágico Información para los Médicos. Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades de los Estados Unidos. 2000.
15. Guzmán MG, Kourí G. Advances in dengue diagnosis. *Clin Diag Lab Immunol* 1996; 3:621-7.
16. Miranda H, Martínez R, Ospina J, Castaño P. Fiebre por dengue: guías de manejo. *Rev Med (Risaralda)*. 2010; 16:41.
17. World Health Organization, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. Geneva: World Health Organization; 2009.
18. Chakavrarti A, Kumaria R, Batra VV., Verma V. Improved detection of Dengue virus serotype from serum samples evaluation of single- tubes multiplex RT-PCR with cell culture. *Dengue bulletin* 2006; 30: 133-40.
19. Hoyos Rivera A, Pérez Rodríguez A, Hernández Meléndez E. Espectro clínico del dengue. *Revista Cubana de Medicina*. 2012; 51(1):61-68.
20. Rendón-Moreno P. Antígeno NS1 del Virus del dengue. *Revista de Laboratorios de Inmunología Moreno Valle*, 2012.
21. Miranda H, Martínez R, Ospina J, Castaño P. Fiebre por dengue: guías de manejo. *Rev Med (Risaralda)*. 2010; 16:41.
22. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica. Procedimiento para la aplicación del nuevo algoritmo para diagnóstico por laboratorio de fiebre por dengue y fiebre hemorrágica por dengue. México: InDRE, RNLSP; 2008.
23. Singh MP, Majumdar M, Singh G, Goyal K, Preet K, Sarwal A, et al. NS1 antigen as an early diagnostic marker in dengue: Report from India. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 68:50-4.
24. Guzmán MG, Jaenisch T, Gaczkowski R, Ty Hang VT, Sekaran SD, Kroeger A, et al. Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4:e811.
25. Jeanette Prada-Arismendy. Jéniffer A. Buitrago. Jéssica Beltrán. Olga Lucía Chavarro. Jaime E. Castellanos. Evaluación del valor diagnóstico de la detección de NS1 en pacientes con dengue agudo. *Revista Salud Bosque*. Colombia. Volumen 2. Número 1. Págs. 7-16

26. Maria G. Guzman, Thomas Jaenisch, Roger Gaczowski, Vo Thi Ty Hang, Shamala Devi Sekaran, Axel Kroeger, Susana Vazquez, Didye Ruiz, Eric Martinez, Juan C. Mercado, Angel Balmaseda. Dengue NS1 ELISA Multicountry Evaluation. August 2010. Volume 4. Issue 8.
27. Kapil Goyal, Kanwal Preet, Abha Sarwal, Baijayantimala Mishra, Radha Kanta Ratho. NS1 antigen as an early diagnostic marker in dengue: report from India. Diagnostic microbiology and infectious disease (impact factor: 2.45). 09/2010; 68(1):50-4. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2010.04.004.

ANEXOS

ANEXO 1

Instrumento de recolección

1. Sexo: M___ F___
2. Edad___
3. Días de toma de la muestra___
4. Recuento de plaquetas inicial___
5. Prueba NS1 en enfermo del Dengue: Positivo___ Negativo___
6. Prueba IgM en enfermo de Dengue: Positivo___ Negativo___

7. Tabla de análisis:

Dengue	Diagnóstico confirmado de dengue
Positiva	VP
Negativa	FN

Sensibilidad de la prueba: $VP/VP + FN$