



**UNL**

Universidad  
Nacional  
de Loja

**Universidad Nacional de Loja**

Facultad de la Salud Humana

Carrera de Laboratorio Clínico

**Serotipos virales de dengue: estudios de las técnicas moleculares y su eficacia diagnóstica.  
Una revisión sistemática**

**Trabajo de Integración Curricular  
previo a la obtención del título de  
Licenciado en Laboratorio Clínico**

AUTOR:

Alex Gabriel Ordoñez Carrillo

DIRECTORA:

Lic. María Del Cisne Loján González, M.Sc.

Loja-Ecuador

2023

## Certificación

Loja, 25 de agosto de 2023

Lic. María del Cisne Loján González M. Sc.

### **DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Yo, **Lojan Gonzalez Maria del Cisne**, director del Trabajo de Integración Curricular denominado **Serotipos virales de dengue: Estudios de las técnicas moleculares y su eficacia diagnóstica. Una revisión sistemática**, perteneciente al estudiante **ALEX GABRIEL ORDOÑEZ CARRILLO**, con cédula de identidad N° **1105710691**. Certifico que luego de haber dirigido el **Trabajo de Integración Curricular** se encuentra concluido, aprobado y está en condiciones para ser presentado ante las instancias correspondientes.

Es lo que puedo certificar en honor a la verdad, a fin de que, de así considerarlo pertinente, el/la señor/a docente de la asignatura de **Integración Curricular**, proceda al registro del mismo en el Sistema de Gestión Académico como parte de los requisitos de acreditación de la Unidad de Integración Curricular del mencionado estudiante.

Loja, 25 de Agosto de 2023



F) -----  
**DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN  
CURRICULAR**

Lic. María del Cisne Loján González M. Sc.

### **DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Autoría**

Yo, **Alex Gabriel Ordoñez Carrillo**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular en el Repositorio Digital Institucional - Biblioteca Virtual.

**Firma:**



**Cédula de Identidad:** 1105710691

**Fecha:** 01/11/2023

**Correo electrónico:** alex.g.ordonez@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0997895025

**Carta de autorización por parte del autor, para consulta, producción parcial o total, y publicación electrónica de texto completo del Trabajo de Integración Curricular.**

Yo, **Alex Gabriel Ordoñez Carrillo**, declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Serotipos virales de dengue: estudios de las técnicas moleculares y su eficacia diagnóstica. Una revisión sistemática**, como requisito para optar por el título de **Licenciado en Laboratorio Clínico** autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, al primer día del mes de noviembre del dos mil veintitrés.

**Firma:**



**Autor:** Alex Gabriel Ordoñez Carrillo

**Cédula:** 1105710691

**Dirección:** Ciudadela del Chofer "Las pitas", José Antonio Tábara y Eduardo Mora Moreno

**Correo electrónico:** alex.g.ordonez@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0997895025

**Datos complementarios:**

Directora del Trabajo de Integración Curricular: Lic. María del Cisne Loján Gonzáles Mg. Sc.

## **Dedicatoria**

El presente Trabajo de Integración Curricular se lo dedico a mi familia, primordialmente a mis padres, Roberth Eduardo Ordoñez y Elsa Paulina Carrillo Flores, gracias a su esfuerzo y entrega, siempre estuvieron presentes para brindarme el apoyo incondicional durante esta etapa de mi vida.

*Alex Gabriel Ordoñez Carrillo*

## **Agradecimiento**

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, autoridades y docentes de la carrera de Laboratorio Clínico quienes con dedicación, me brindaron su apoyo a través de los espacios físicos, herramientas y conocimiento necesarios para mi formación profesional durante todo el periodo desde que ingresé la Universidad.

De manera especial, a la Lic. María del Cisne Loján González M.Sc. quien, con paciencia, conocimiento y perseverancia fue mi guía y apoyo en el desarrollo y ejecución de mi Trabajo de Integración Curricular.

*Alex Gabriel Ordoñez Carrillo*

## Índice de Contenidos

Portada.....	i
Certificación .....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización .....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice de Contenidos.....	vii
Índice de tablas .....	x
Índice de anexos.....	xi
1. Título .....	1
2. Resumen .....	2
2.1 Abstract.....	3
3. Introducción.....	4
4. Marco Teórico.....	6
4.1. Dengue.....	6
4.1.1 Historia.....	6
4.1.2 Epidemiología.....	7
4.1.3 Aspectos genéticos.....	8
4.1.4 Vector y transmisión .....	8
4.1.5 Serotipos .....	9
4.2. Aspectos clínicos de la enfermedad.....	10
4.2.1 Clasificación.....	11

4.2.1.1 Dengue sin signos de alarma.....	11
4.2.1.2 Dengue con signos de alarma. ....	11
4.2.1.3 Dengue grave. ....	11
4.2.2 Factores de riesgo.....	12
4.3 Diagnóstico de laboratorio .....	12
4.3.1 Métodos directos .....	13
4.3.1.1 Aislamiento viral.....	13
4.3.1.2 Detección molecular. ....	13
4.3.1.2.1 PCR transcriptasa inversa (RT-PCR). ....	13
4.3.1.2.2 PCR-anidada. ....	14
4.3.1.2.2 PCR en tiempo real. ....	14
4.3.1.2.3 Amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP). ....	14
4.3.2 Métodos indirectos.....	14
4.3.2.1 ELISA. ....	15
4.3.2.2 Mac-ELISA.....	15
4.3.2.3 Inhibición de la hemaglutinación.....	15
4.3.2.4 Fijación del complemento. ....	15
4.3.2.5 Pruebas rápidas.....	16
4.3.3 Exámenes complementarios.....	16
4.4 Prevención.....	16
4.4.1 Control y prevención de criaderos .....	17
4.4.2 Prevención de picaduras/protección personal.....	17
4.4.3 Vigilancia epidemiológica .....	18



4.4.4 Educación para la salud.....	18
5. Metodología.....	19
5.1 Diseño del estudio.....	19
5.2 Criterios de elegibilidad.....	19
5.2.1. Criterios de inclusión.....	19
5.2.2. Criterios de exclusión.....	19
5.3 Fuentes de información.....	20
5.4 Estrategia de búsqueda y selección del estudio.....	20
5.5 Proceso de extracción y recopilación de datos .....	21
5.6 Lista de datos .....	22
5.7 Evaluación de la calidad de los artículos.....	22
5.7.1 Riesgo de sesgo entre los estudios .....	22
5.7.2 Evaluación de la calidad de la revisión sistemática .....	23
5.8 Síntesis de resultados .....	24
6. Resultados.....	25
7. Discusión .....	38
7.1 Limitaciones .....	41
8. Conclusiones.....	42
9. Recomendaciones.....	43
10. Bibliografía .....	44
11. Anexos .....	51

## Índice de tablas

Tabla 1. Resultados del objetivo 1 .....	26
Tabla 2. Resultados del objetivo 2 .....	31
Tabla 3. Resultados del objetivo 3 .....	35

## Índice de anexos

Anexo 1. Oficio de director de Proyecto de Integración Curricular .....	51
Anexo 2. Flujograma sobre la búsqueda y selección de los estudios .....	52
Anexo 3. Matriz de datos y características de los estudios seleccionados .....	53
Anexo 4. Tabla resumen de la evaluación de la calidad de los 26 artículos seleccionados .....	61
Anexo 5. Evaluación de la calidad de la revisión sistemática .....	62
Anexo 6. Carta de pertinencia y coherencia .....	63
Anexo 7. Certificado de traducción de inglés avalado por un profesional.....	64

## **1. Título**

Serotipos virales de dengue: Estudios de las técnicas moleculares y su eficacia diagnóstica. Una revisión sistemática.

## 2. Resumen

El dengue es una enfermedad viral causada por cuatro serotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4) estrechamente relacionados, que se transmiten por el vector *Aedes spp.* Es considerada la enfermedad arboviral más común a nivel mundial. El diagnóstico de esta enfermedad se lo confirma mediante laboratorio, utilizando métodos directos o indirectos que presentan distintos grados de eficacia y efectividad diagnóstica. La finalidad de este estudio es identificar los principales métodos moleculares y su eficacia diagnóstica en la identificación y serotipificación del virus del dengue. Con tal efecto, se ha planteado seguir la metodología para revisiones sistemáticas partiendo de la búsqueda del problema con las pautas del sistema Cochrane y el cribado la información siguiendo el método PRISMA, evaluando la calidad de cada documento mediante la herramienta JBI para estudios de precisión de pruebas diagnósticas asegurando que los ensayos utilizados para esta revisión cumplan con las pautas establecidas para su metodología y desarrollo, con la finalidad de evitar el mayor porcentaje de riesgo de sesgo posible. Se incluyeron un total de 26 artículos para esta revisión en los que se encontró que la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con transcriptasa inversa (RT-qPCR), la amplificación isotérmica mediada por bucle y la RT-PCR convencional son las técnicas que más se utilizan en la detección del dengue, por otra parte, los serotipos circulantes detectados fueron los 4, en Asia, América y Europa, finalmente, las técnicas moleculares que presentaron mayor eficacia diagnóstica fueron las técnicas basadas en RT-qPCR y RT-LAMP. En conclusión, la elección de la técnica para la detección del dengue depende de su accesibilidad, sencillez, rapidez y eficacia diagnóstica, por otra parte, el creciente aumento de infecciones por dengue constituye un problema serio de salud si no existe el manejo clínico y epidemiológico adecuado.

**Palabras clave:** Reacción en cadena de la polimerasa, amplificación isotérmica mediada por LOOP, sensibilidad, especificidad, efectividad.

## 2.1 Abstract

Dengue is a viral disease caused by four closely related serotypes (DENV-1, DENV-2, DENV-3 and DENV-4) transmitted by the vector *Aedes* spp. It is considered the most common arboviral disease worldwide with the greatest burden in tropical and subtropical regions. The diagnosis of this disease is confirmed by laboratory, using direct or indirect methods that have different degrees of diagnostic efficiency and effectiveness. The purpose of this study is to identify the main molecular methods and their diagnostic efficacy in the identification and serotyping of dengue virus. To this end, the methodology for systematic reviews was followed, starting with the search for the problem using the Cochrane system guidelines and screening the information following the PRISMA method, evaluating the quality of each document using the JBI tool for diagnostic test accuracy studies, ensuring that the tests used for this review comply with the guidelines established for their methodology and development, so that the results presented in this review are adequate, avoiding the highest percentage of risk of bias possible. It was found that real-time polymerase chain reaction with reverse transcriptase (RT-qPCR), loop-mediated isothermal amplification and conventional RT-PCR are the techniques most commonly used in the detection of dengue, on the other hand, the circulating serotypes detected were the 4, in Asia, America and Europe, finally, the molecular techniques that showed the highest diagnostic efficacy were RT-qPCR and RT-LAMP based techniques. In conclusion, the choice of technique for the detection of dengue depends on its accessibility, simplicity, rapidity and diagnostic efficacy; on the other hand, the growing increase of dengue infections constitutes a serious health problem if there is no adequate clinical and epidemiological management.

**Key words:** Polymerase chain reaction, LOOP-mediated isothermal amplification, sensitivity, specificity, effectiveness.

### 3. Introducción

El dengue es una enfermedad reemergente, de tipo viral, causada por un arbovirus, que se clasifica en cuatro serotipos virales: virus del dengue 1 (DENV-1), virus del dengue 2 (DENV-2), virus del dengue 3 (DENV-3) y virus del dengue 4 (DENV-4); el virus del dengue contiene un genoma de ARN monocatenario. Es la virosis más importante en humanos, transmitida por artrópodos, específicamente por especies del género *Aedes*. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad que se presentan pueden variar desde formas inaparentes, un estadio febril leve, hasta formas graves con resultados mortales (MSP, 2020). El diagnóstico de la infección por dengue se realiza por laboratorio, mediante varios procedimientos como el aislamiento viral, la detección del genoma, detección de anticuerpos anti-DENV o la detección del antígeno de proteína no estructural 1 (NS1). Cada metodología usada en la identificación de la infección por dengue presenta distintos grados de sensibilidad y especificidad, así como diferencias en la exigencia del trabajo, materiales y costos de aplicación que pueden modificar los resultados, esto quiere decir que no todos los casos reportados son necesariamente precisos. Existen métodos que son altamente específicos, como el aislamiento viral por inoculación celular, que es considerada la prueba de oro, pero su sensibilidad no es tan alta en comparación a su laboriosidad, por lo tanto, su uso no es común en los laboratorios básicos. También están las técnicas indirectas para la detección de antígenos o anticuerpos. Los métodos moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus variantes, que, además de su accesibilidad, presentan una elevada sensibilidad y especificidad, por ello, se han convertido en los métodos de elección para la detección del virus, como método confirmatorio en varios laboratorios. (Carr et al, 2010).

El dengue como enfermedad, constituye un problema de salud importante a nivel mundial, principalmente en zonas tropicales y subtropicales consideradas endémicas (>128 países), alrededor de 3.000 millones de personas viven en zonas de riesgo en las que se puede contraer fácilmente, según estimaciones de la OMS, la morbilidad de esta infección es de 390 millones de casos cada año, de los cuales 96 millones se manifiestan clínicamente. En el continente americano son comunes los cuatro serotipos virales, según estadísticas de las Organización Mundial de la Salud, en 2021, en la Región de las Américas, se presentaron 1.268.767 casos de dengue, con una incidencia de 127.89 casos por cada 100.000 habitantes; de los cuales 3.273 fueron clasificados como dengue grave con 437 decesos (OPS, 2023).

En la región de las Américas, en el año 2022, se registraron 2.811.433 casos de dengue, con una incidencia de 283,39 casos por cada 100.000 habitantes, en las que se incluyen 4.607 casos de dengue grave y 1.290 defunciones (OPS, 2023). Así mismo, hasta la fecha 5 de julio del presente año 2023, que comprende desde la semana epidemiológica 1 hasta la 24 (SE), se han notificado 2.102.848 casos de dengue con una incidencia de 214 casos por 100.000 habitantes con 876 decesos (OPS, 2023).

En el Ecuador, en el año 2021, se registraron 20.592 casos, en la que se incluyen 79 casos de dengue grave y 19 decesos confirmados. Durante el siguiente periodo, en el año 2022, se mantiene un número de casos notificados correspondientes a 16.017, de los cuales 109 corresponden a dengue grave (SIVE, 2023). Finalmente, las estadísticas oficiales de 2023 del Ministerio de Salud Pública, se presentan datos actualizados hasta la SE 3, notificando un total de 727 casos confirmados de dengue (SIVE, 2023).

Esta revisión sistemática abarcó la descripción de los métodos moleculares utilizados para confirmar el diagnóstico de dengue y sus limitaciones prácticas y diagnósticas para la vigilancia y control de la enfermedad que permitirá responder la siguiente pregunta: ¿Qué serotipos de dengue circulan en la población mundial y cuál es la eficacia diagnóstica de las pruebas moleculares utilizadas para su detección? Así como también el logro del siguiente objetivo “Realizar una revisión sistemática minuciosa de las principales técnicas moleculares utilizadas para la detección del virus del dengue, sus serotipos, y su eficacia diagnóstica” que, en base a la problemática presentada, servirá como fuente de información a investigadores y profesionales interesados que deseen aplicar las técnicas moleculares para la detección del dengue y conocer los serotipos circulantes en una población, para que tengan el conocimiento del rendimiento de las técnicas y tengan la posibilidad de elegir alguna con el menor riesgo posible de presentar errores analíticos por falsos positivos o negativos, con la mayor eficacia posible en base a la sensibilidad y especificidad de cada técnica.



## 4. Marco Teórico

### 4.1. Dengue

El virus del dengue (DENV) pertenece al género *Flavivirus*, de la familia *Flaviviridae*, es un virus que se transmite por mosquitos hembra del género *Aedes*, específicamente las especies *A. aegypti* y *A. albopictus*. La enfermedad se transmite entre personas cuando el mosquito pica a una persona infectada y absorbe la sangre con el virus presente, luego, las partículas virales se disponen en algunos órganos del mosquito como en el hemocele y las glándulas salivales principalmente, convirtiéndose en el reservorio del virus, finalmente, si el mosquito pica a otra persona se libera la saliva con presencia del virus infectando a un individuo sano. A partir de este momento, generalmente entre 3 a 5 días, los síntomas aparecen en la persona, como fiebre y dolores generalizados, y este es el momento adecuado para detectar la viremia, en algunos casos la enfermedad puede agravarse con presencia de hemorragia o choque hipervolémico que aumenta el grado de mortalidad (Muller, 2017).

La infección por el virus del dengue, constituye la enfermedad viral transmitida por mosquitos más importante a nivel mundial. Es la enfermedad arboviral más común en todo el mundo, con la mayor carga en las regiones tropicales y subtropicales. En las zonas endémicas, con la ausencia de medidas efectivas de prevención y control, se proyecta que el dengue aumentará tanto en la carga de la enfermedad como en el rango geográfico (Wong, 2022).

#### 4.1.1 Historia

El aislamiento del virus del dengue se presenció en América por primera vez en el año 1942 (Schneider & Droll, 2001), causó epidemias y pandemias en siglos anteriores y actualmente sigue en auge. Inicialmente se presentó en Cuba en 1981, con 24.000 casos de dengue grave, 10.000 casos de dengue sin signos de alarma y 158 defunciones notificadas en 3 meses. En Brasil, entre 1986 y 1987 también se notificaron brotes de dengue común, y las investigaciones posteriores indicaron la prevalencia de 4 millones de casos de dengue clásico, mediante métodos serológicos. Durante los últimos siglos, la propagación del virus en países de América infestados con el vector *A. aegypti* fue impresionante, con un incremento de 600.000 casos cada año en el siglo anterior. Actualmente, la OMS tiene datos que presencian un incremento de 390 millones de infecciones

por el virus del dengue cada año, mundialmente, en los que se incluyen 96 millones que presentan síntomas clínicos (Theran, 2022).

La amplia distribución e incidencia de infecciones por dengue, se relaciona con la repartición de los vectores *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en varios países, junto con el aumento del número de personas en extensas áreas urbanas. Algunas causas son la falta de programas efectivos por parte de los gobiernos, el deterioro del ambiente urbano, calentamiento global, las condiciones de hacinamiento y el incremento de vuelos aéreos por la migración (Theran, 2022).

#### ***4.1.2 Epidemiología***

La amplia distribución del vector, en zonas endémicas, así como la circulación de varios serotipos de dengue, el número de población en riesgo y el crecimiento urbano no planificado en zonas con escasez sanitaria son los factores principales que elevan el índice de personas infectadas. El vector *A. aegypti* se ha adaptado a zonas urbanas, en agua estancada o plantas cercanas a las viviendas, su reproducción se produce en climas tropicales y semitropicales típicos de varias zonas en Sudamérica y el Caribe (Contreras, 2021).

Según los registros de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020), se estima que 500,000 personas con la forma grave de infecciones por dengue requieren hospitalización anualmente, incluido el grupo pediátrico. Según el mismo informe, el 2,5% de la población hospitalizada termina muriendo debido a complicaciones asociadas con la forma grave de dengue. Los estudios también han demostrado que las posibilidades de contraer infecciones por dengue son más altas entre las personas del grupo de edad de 30 a 45 años y el mismo grupo experimenta la mayoría de las muertes relacionadas con el dengue anualmente. En Ecuador, en el año 2018 se reportaron 3.094 casos, de ellos, 2.965 casos se agruparon como dengue sin signos de alarma (DSSA), 123 casos se agruparon como dengue con signos de alarma y 6 reportados como dengue grave. Se evidenció la circulación durante ese periodo de los serotipos DENV-1 y DENV-4. Por otra parte, en el año 2019 se reportaron 8.416 casos en el país, con incidencia de 49 por 100.000 habitantes y 6 defunciones confirmadas; mientras que el año 2020 los casos se duplicaron con 16.570 reportados, con una tasa de incidencia de 98,26 por 100.000 habitantes, con solo 6 defunciones registradas (Palencia, 2021).

### **4.1.3 Aspectos genéticos.**

El virus del dengue (DENV) es un *flavivirus* perteneciente a la familia *Flaviviridae*. Clínicamente, el DENV se puede clasificar por su complejo de reconocimiento aminoacídico en cuatro serotipos: DENV-1, 2, 3 y 4 respectivamente; que son diferentes, pero comparten un 65% a 70% de la secuencia de aminoácidos que los conforman. El genoma del DENV corresponde a una sola hebra de ARN monocatenario o simple que se encuentra en sentido positivo (+) abarcando un tamaño de 10,7 – 11 kb, solamente codifica un marco abierto de lectura compuesto por alrededor de 3.400 codones. Es importante destacar que el serotipo 2 es el más estudiado, por lo que su secuencia genómica se encuentra disponible por completo en el GenBank (Contreras, 2021).

Sin embargo, si se considera el tipo de proteínas que están codificadas en el marco abierto de lectura, el genoma se puede dividir en dos regiones; el que codifica las proteínas estructurales: cápside (C), para la encapsulación del genoma, proteína de membrana (prM) y envoltura (E), que sirve como mediadora en la fusión del virus y la membrana de las células del hospedador; y el que codifica para las proteínas no estructurales o mejor conocidas como NS (non structural). En su estructura, los genes del DENV se encuentran organizados secuencialmente de esta manera: 5' – C – prM – E – NS1 – NS2A – NS2B – NS3 – NS4A/2K – NS4B – NS5 y 3'. El genoma del DENV se encuentra flanqueado por dos regiones no codificantes, la región en sentido 5' no varía entre serotipos, y la región en sentido 3' es una zona hipervariable (Contreras, 2021).

En el momento de la infección, el DENV ingresa a las células del hospedador donde se replicará rápidamente en miles de copias a partir de una copia de ARN. En el citoplasma, el virus necesita llegar a los ribosomas para traducirse a proteínas virales, la expresión de una ARN polimerasa permite generar una copia en sentido 3' a 5', el producto será una copia de ARN sentido negativo, que a su vez servirá como base para la formación de copias ARN sentido positivo.

### **4.1.4 Vector y transmisión**

Los virus del dengue se pueden transmitir por picaduras de los mosquitos vectores hembras *Aedes* del subgénero *Stegomyia*. *A. aegypti* es el vector más importante que se ha encontrado en las Américas, específicamente en las zonas con climas tropicales y subtropicales. Además, existen otras especies como *A. albopictus*, *A. polynesiensis* y *A. niveus* que se desempeñan como vectores

secundarios, y no es tanta su distribución en América; aunque la especie *A. niveus* se considera solamente vector selvático. Actualmente, la especie *A. albopictus* se ha convertido en un vector muy importante debido a su adaptación a climas templados que, incluso *A. aegypti* no puede sobrevivir (Khetarpal, 2016).

La transmisión también puede ser vertical, cuando una madre previamente infectada con el virus del dengue, transmite la infección al feto durante el embarazo o durante el momento de nacimiento. Otras formas de transmisión son por transfusión sanguínea, trasplante de órganos o a través de un pinchazo de aguja previamente infectada de una persona portadora del virus (Khetarpal, 2016).

El ciclo de vida del mosquito *Aedes* dura de 8 a 10 días en temperatura ambiente y con las condiciones de vida necesarias como el calor o la humedad; además depende de la alimentación. Su ciclo presenta dos fases, la acuática en forma de larva y pupa y la terrestre como huevo y adulto. La forma de huevo mide 1 mm, y es la primera fase del mosquito, se desarrolla y eclosionan de 2 a 3 días después; algunos pueden permanecer en ese estadio desde 7 meses hasta 1 año. La fase larvaria es únicamente acuática, tiene 4 ciclos y surge después de la eclosión del huevo, se considera el periodo de mayor alimentación y crecimiento. Desde la eclosión hasta la pupación puede durar un periodo de 5 a 7 días. Las pupas son una fase del ciclo de vida del mosquito en el que se presentan cambios anatómico-fisiológicos en el organismo, no se alimenta, permanece en un estado de reposo de 1 a 3 días. El adulto es la fase final del ciclo de vida, emerge de las pupas en estadio de reposo y puede aparearse un día después. Las hembras son las únicas en capacidad de succionar sangre, su alimento sirve como nutrientes para el desarrollo de los huevos. La hembra tiende a depositar aproximadamente 200 huevos en distintos lugares asegurando la viabilidad de su especie (Montero, 2009).

#### **4.1.5 Serotipos**

El virus del dengue constituye un serocomplejo, conformado por cuatro serotipos estrechamente relacionados, el DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4, se estima que la diferencia entre la secuencia de aminoácidos de los mismos es mayor o igual al 30%. Cualquiera

de los serotipos puede causar la infección característica, así como evolucionar a una forma más grave (Meng, 2016).

Los individuos pueden infectarse por más de un serotipo durante toda su vida. La infección primaria a un serotipo le confiere inmunidad permanente para dicho serotipo, con un periodo breve de inmunidad para el resto, por lo tanto, pasado el periodo de inmunidad parcial, el individuo se puede volver a infectar de cualquiera de los 3 serotipos restantes. La infección secundaria con diferentes serotipos es más complicada que la primaria. En la infección primaria el sistema inmune del individuo genera anticuerpos específicos del serotipo, en la infección secundaria estos anticuerpos se vuelven inútiles contra los otros serotipos, incluso favorecen la entrada a las diferentes células por la formación de complejos inmunes con el virus. Además, estudios han revelado que existen serotipos que pueden causar formas más graves de la enfermedad que otros, incluso si se desarrollan en la fase primaria. Anantapreecha et al, informaron que la infección primaria con DENV-1 causó más infecciones graves (IC 95 %, 54,57–67,41) en comparación con otros serotipos (IC 95 %, 4,58–52,96). Estudios de los efectos inmunogénicos demostraron mayor respuesta de las citoquinas en los serotipos DENV-2 y DENV-3, se informó que DENV-4 era menos inmunogénico (Meng, 2016).

#### **4.2. Aspectos clínicos de la enfermedad**

La Organización Mundial de la Salud, en 2009, estableció pautas para el manejo clínico de la enfermedad, clasificando las etapas de la enfermedad en una forma más simplificada. Las personas que se infectan con el virus del dengue pueden padecer una fase infecciosa asintomática o sintomática. Siendo una prevalencia de alrededor del 80% de casos asintomáticos; el 20% restante presentan síntomas con manifestaciones clínicas variadas desde formas no complicadas a graves. La enfermedad en su etapa aguda, se presenta abruptamente, luego de 5-8 días de incubación tras la infección, en 3 fases diferenciales: febril, crítica y de recuperación. La fase febril tiene un inicio rápido y varias sintomatologías no específicas, fiebre de alto grado, enrojecimiento de la piel, dolor corporal, mialgia, artralgia y dolor de cabeza. Pueden presentarse varios síntomas adicionales como dolor de garganta, anorexia, náuseas y vómitos, en algunos casos acompañados de hemorragia. La mayoría de individuos infectados se recuperan al finalizar la fase febril y no llegan a desarrollar la fase crítica de la enfermedad (Álvarez y Vargas, 2019).

Las personas que desarrollan la fase crítica, lo hacen al momento de la disminución de la fiebre, lo que da lugar a una fuga vascular, leucopenia y disminución en el recuento plaquetario. Son señales de advertencia antes del inicio del shock en el paciente. El shock ocurre cuando un paciente pierde un volumen crítico de plasma a través de una fuga vascular. Al finalizar el periodo crítico, la fase de recuperación ocurre relativamente rápido, permitiendo la recomposición de los líquidos corporales junto a un aumento del bienestar en general. Las formas graves de la enfermedad tienen una definición, cuando el paciente presenta infección por dengue y fuga de plasma que conduce a padecer shock; sangrado severo e insuficiencia orgánica grave (Álvarez y Vargas, 2019).

#### **4.2.1 Clasificación**

Cada cuadro clínico de la enfermedad, por su gran variedad, se ha delimitado con criterios específicos, signos y síntomas y valores de laboratorio.

**4.2.1.1 Dengue sin signos de alarma.** Cuando la persona vive en zonas endémicas o viaja, presenta fiebre, en asociación de náuseas, vómitos, erupción cutánea, molestias y dolores, prueba de torniquete positiva o leucopenia (Álvarez y Vargas, 2019).

**4.2.1.2 Dengue con signos de alarma.** Presencia de un cuadro de dengue con evolución, dolor abdominal intenso, vómitos frecuentes, acumulación de líquidos (edemas o derrames), sangrado de mucosas, letargia, dolor precordial, hepatomegalia mayor a 2 cm y descenso rápido de las plaquetas (Álvarez y Vargas, 2019).

**4.2.1.3 Dengue grave.** Se presenta el cuadro clínico de dengue común asociado a una extravasación de plasma, lo que origina un síndrome de choque por dengue, acumulación de líquidos e insuficiencia circulatoria (acidosis metabólica). Otras características clínicas que se presentan son la trombocitopenia, hiponatremia, hemorragia grave, compromiso grave de órganos como el hígado, corazón y sistema nervioso central (Álvarez y Vargas, 2019).

### **4.2.2 Factores de riesgo**

La ubicación geográfica del Ecuador, con su diversidad climática en las distintas regiones, favorecen el desarrollo del vector que transmite el dengue. Las condiciones ambientales, como el clima tropical asociado a elevadas temperaturas, periodos prolongados de lluvia y humedad como en la costa y en algunas partes del oriente determinan las condiciones favorables para que el ciclo biológico de los zancudos se desarrolle notablemente, disminuyendo los días necesarios en que el huevo se transforme en mosquito adulto (Gonzales et al, 2019).

En la comunidad, los factores de riesgo que predisponen el desarrollo del mosquito y consecuentemente la infección por dengue son el comportamiento de la población en relación a la conservación y almacenamiento de recipientes de agua, no se tapan adecuadamente y generalmente permanecen sucios. De la misma forma, el inadecuado manejo de desechos sólidos genera lugares que sirven como depósitos y criaderos para los vectores. La elevada tasa de migración que se presenta actualmente por las condiciones socioeconómicas que viven los pueblos; el desconocimiento de la enfermedad y la sintomatología; y, la tasa de colaboración muy baja que impide que se tomen medidas para controlar el vector en las zonas más propensas a su desarrollo (Gonzales et al, 2019).

### **4.3 Diagnóstico de laboratorio**

A través de los años se han implementado diferentes técnicas diagnósticas, que abarcan desde las técnicas celulares hasta las moleculares, pasando por las inmunológicas, que son las más comunes. La infección por dengue generalmente se confirma mediante la identificación del ARN genómico viral, detección de antígenos o los anticuerpos que provoca (Khetarpal, 2016).

La muestra a obtener dependerá de la fase clínica de la enfermedad en que se encuentra el paciente. Generalmente la muestra clínica ideal para la detección de dengue es el suero, aunque también puede obtenerse plasma. Las muestras de hígado, bazo, ganglio linfático y otros órganos se utilizan en pacientes fallecidos con sospecha clínica de la enfermedad y se puede utilizar técnicas de aislamiento viral, detección molecular o de antígenos virales (OMS, 2015).

### **4.3.1 Métodos directos**

**4.3.1.1 Aislamiento viral.** Se realiza inoculando ratones, mamíferos o más comúnmente la inoculación de células de mosquitos *Aedes albopictus* C6/36 acompañado de la identificación viral mediante PCR en tiempo real o inmunofluorescencia indirecta, que utiliza anticuerpos monoclonales específicos a cada serotipo. Los estudios han demostrado que la inoculación torácica de los mosquitos y la inoculación de larvas permiten elevar la sensibilidad del aislamiento viral, aunque no son los más utilizados. También denominada “prueba de oro”, gracias a su 100% de especificidad de resultar la prueba positiva. La técnica aplicada es muy laboriosa y costosa, y como su sensibilidad no es muy alta, la aplicación clínica diaria no es rentable (OMS, 2015).

**4.3.1.2 Detección molecular.** Las técnicas moleculares para la identificación de virus constituyen herramientas rápidas y confiables por su alta sensibilidad y especificidad en comparación a las otras técnicas. Además, las técnicas de detección molecular permiten determinar la variabilidad genética de los virus a partir de la secuenciación del genoma. Se aplican principalmente en estudios epidemiológicos. La técnica más usada es la Reacción en la Cadena de la Polimerasa (PCR), la cual se basa en mecanismos celulares de replicación de ácidos nucleicos. Existen diferentes tipos de PCR para la identificación del dengue (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.1.2.1 PCR transcriptasa inversa (RT-PCR).** La RT-PCR consiste en una transcripción reversa inicial, en la que el ARN viral, mediante la acción de la enzima transcriptasa reversa, se convierte en ADN complementario, y a partir de éste se realiza una PCR convencional en la que se amplifica una región conservada del genoma del virus dengue. Los pasos a seguir para realizar esta reacción son los siguientes, de manera general:

1. Pre-PCR, extracción del ARN a partir de suero de pacientes.
2. Transcripción reversa (ARN a ADN), seguido de la PCR.
3. Post-PCR, visualización en un gel. El “punto final” que permite definir si una muestra es o no positiva, es la visualización en el gel, obteniéndose un resultado netamente cualitativo (Gutiérrez et al, 2012).



**4.3.1.2.2 PCR-anidada.** Lanciotti et al. propusieron una RT-PCR para la detección y tipificación del virus dengue, la cual consiste en la conversión inicial del ARN en ADN copia mediante la acción de la enzima transcriptasa reversa; a partir del ADN obtenido se realiza una PCR convencional, para lo cual se usan cebadores (primers) que amplifican genes de las regiones C y prM del virus, seguida de una PCR anidada con cebadores específicos, capaces de reconocer cualquiera de los cuatro serotipos en ARN extraído de suero, de sobrenadantes de cultivos celulares o de mosquitos infectados. No obstante, esta técnica presenta algunas complicaciones relacionadas con la obtención de falsos positivos por la contaminación cruzada generada por los amplicones resultantes de la primera ronda de PCR y que son los que sirven de molde para la segunda ronda (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.1.2.2 PCR en tiempo real.** Las técnicas de PCR en tiempo real combinan los principios de una PCR convencional con el uso de marcadores fluorescentes. En el caso del virus del dengue, esta técnica comparte los primeros pasos de una RT-PCR convencional: extracción de ARN y transcripción reversa, pero el “punto final” es diferente, pues no necesita visualización en un gel, sino que se observan las curvas de amplificación y se obtiene un resultado cuantitativo (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.1.2.3 Amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP).** La técnica utiliza entre 4 y 6 cebadores para amplificar una secuencia diana por desplazamiento de la cadena, en este ensayo participa una enzima ADN polimerasa Bst, que actúa constantemente a una temperatura de 60 a 65 °C. Algunas ventajas de esta técnica es la velocidad mayor que le concede el uso de los 4 o 6 cebadores, entre mayor número, más rápida es la amplificación, reduce el tiempo y costes en los procedimientos (Bettin A. et al., 2018).

#### **4.3.2 Métodos indirectos**

Los métodos indirectos se basan en la detección de anticuerpos generados en el organismo por la presencia del virus. Las técnicas inmunológicas son las principales utilizadas para este propósito. Como la mayoría de técnicas de inmunología, se basan en reacciones antígeno-anticuerpo para dar lugar a la formación de un inmunocomplejo que será detectado por métodos de precipitación, aglutinación, fluorescencia o actividad enzimática, entre otros. Para aplicar este tipo

de técnicas es recomendable utilizar sueros pareados, uno de la fase aguda de la enfermedad y otro de la fase crónica (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.2.1 ELISA.** El ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas permite la detección tanto de anticuerpos tipo IgG o IgM y antígenos virales. Se basa en el uso de una enzima que reacciona con un sustrato específico, lo cual produce un cambio de color del cromógeno, evidenciando la formación de inmunocomplejos. La técnica de ELISA permite obtener no solo un resultado cualitativo, sino semi-cuantitativo. Para la detección de dengue por esta técnica se utiliza como componente de la fase sólida a antígenos virales obtenidos previamente y se adiciona el suero del paciente para formar el inmunocomplejo; la enzima que se utiliza para evidenciar la reacción es una anti-inmunoglobulina conjugada con fosfatasa alcalina (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.2.2 Mac-ELISA.** Es la técnica de captura de anticuerpos IgM y se basa, como su nombre lo indica, en la captura total de IgM presente en el suero del paciente mediante el uso de anticuerpos anti-IgM humana, los cuales están adheridos a la fase sólida de la placa; posteriormente, se adicionan antígenos de dengue y anticuerpos (monoclonales o policlonales) específicos contra él. Finalmente, en la reacción se adicionará una enzima que permitirá el cambio de color en caso de una reacción positiva (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.2.3 Inhibición de la hemaglutinación.** La hemaglutinación permite la detección de un virus por la capacidad de ciertos componentes del mismo para aglutinar eritrocitos. La inhibición de la hemaglutinación es una técnica que permite la detección de anticuerpos específicos contra el virus del dengue, la presencia de los anticuerpos evita que se aglutinen los eritrocitos en presencia del virus. El suero del paciente, en donde se presume hay anticuerpos específicos, se pone en contacto con el virus y posteriormente se agrega glóbulos rojos. Si en el suero hay anticuerpos que reconocen al virus, se unirán a éste y se inhibirá la hemaglutinación (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.2.4 Fijación del complemento.** Es una técnica que permite detectar anticuerpos específicos contra el virus. El suero del paciente se mezcla con el virus para formar un complejo, adicionalmente se añade el complemento, una hemolisina. Si se forman los inmunocomplejos en la primera reacción, la hemolisina se fijará y no producirá la lisis de los glóbulos rojos; si no se

forman los complejos en la primera reacción, el complemento no se fijará y los eritrocitos se lisarán por acción de la hemolisina (Gutiérrez et al, 2012).

**4.3.2.5 Pruebas rápidas.** Las pruebas rápidas constituyen un gran avance en el diagnóstico y control de la infección por dengue. Se utilizan tanto para la detección de antígenos, como en el caso de la proteína NS1 del virus o anticuerpos de tipo IgG e IgM. Los casetes para pruebas rápidas son ampliamente utilizados para un diagnóstico rápido, aunque no son muy específicos. La técnica se basa en una reacción cromatográfica, el suero migra a través de la membrana de nitrocelulosa, en caso de presencia, los anticuerpos son captados por anticuerpos anti-IgG o anti-IgM y posteriormente se adhiere un antígeno viral unido a un anticuerpo monoclonal anti-virus dengue marcado con oro coloidal (Gutiérrez et al, 2012).

#### **4.3.3 Exámenes complementarios.**

En laboratorio clínico tanto el hematocrito como el recuento de plaquetas son los exámenes indispensables. El resto de los exámenes complementarios deben realizarse de acuerdo al cuadro clínico del paciente: coagulograma, proteínas totales, albúmina, ionograma, gasometría, urea, creatinina y transaminasas.

### **4.4 Prevención**

La Organización Mundial de la Salud estima que las infecciones causadas por el virus del dengue se dan entre los 80 millones, por lo que su prevención, manejo y control constituye un gran reto en la salud pública a nivel mundial (Driggs et al, 2021).

Driggs et al. (2021) menciona que la OMS y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) han descrito cuatro elementos básicos o principios para que el dengue pueda ser controlado:

- Interés por parte del gobierno
- Las organizaciones de cada país
- La participación de la comunidad

- El establecimiento de leyes de contingencia

Los programas de prevención y control del dengue se enfocan en principios que garanticen calidad de vida de las personas, enfocadas principalmente en la vigilancia y control de la enfermedad, sin dañar el medio ambiente. El dengue constituye un problema de alta magnitud, por lo que las políticas, leyes, gobiernos y comunidades deben trabajar en conjunto para su control (Driggs et al, 2021).

#### ***4.4.1 Control y prevención de criaderos***

- Control del vector en fase larval:
  - a) Control de criaderos
- Eliminación de recipientes que acumulen agua.
- Hacer todo lo posible por tapar recipientes que acumulen agua.
- Controlar el agua de uso animal.
- Eliminar plantas que contengan agua.
- Absorber el agua excedente de cada recipiente.
- Evitar la maleza de jardines.
- Controlar los desagües.
- Controlar las piscinas de natación.
- Realizar controles todo el año (MSA, 2020).

#### ***4.4.2 Prevención de picaduras/protección personal***

- Utilizar repelentes para la piel.

- Evitar ropa oscura.
- Controlar el uso de aerosoles para mosquitos.
- Utilizar mosquiteros
- Utilizar telas para tapar las camas (MSA, 2020).

#### ***4.4.3 Vigilancia epidemiológica***

- Notificar diariamente todos los casos
  - a) Definición de caso.
  - b) Clasificación.
    - b) Pacientes de atención clínica.
  - c) Fichas demográficas.
  - d) Reporte de casos (Touriz et al, 2021).

#### ***4.4.4 Educación para la salud***

- Capacitación del personal.
- Material didáctico audiovisual.
- Atención a escuelas y comunidades.
- Voluntariados comunitarios (Touriz et al, 2021).

## 5. Metodología

### 5.1 Diseño del estudio

Revisión sistemática de la literatura.

### 5.2 Criterios de elegibilidad

Para el desarrollo del presente estudio se consideraron las pautas del sistema Cochrane (Higgins J. y Green S., 2011). Los criterios de elegibilidad se desarrollaron aplicando el formato PICO (**P.** Population, **I.** Intervention, **C.** Comparison, **O.** Outcome) sobre la pregunta de investigación planteada, quedando de la siguiente manera:

- **Población:** Población expuesta al virus del dengue.
- **Intervención:** Sensibilidad y especificidad de técnicas moleculares. Serotipos detectados.
- **Comparación:** No se especifica comparación directa en la pregunta.
- **Resultados:** Técnicas moleculares empleadas, serotipos detectados, sensibilidad y especificidad de pruebas moleculares.

#### 5.2.1. Criterios de inclusión

- Artículos publicados desde el 2013 hasta la actualidad.
- Estudios cualitativos, transversales, precisión de pruebas diagnósticas, revisiones sistemáticas, metaanálisis y casos y controles.
- Publicaciones registradas en: español, inglés y portugués.
- Publicaciones orientadas a métodos moleculares para la detección de dengue y sus serotipos que muestren la eficacia de las mismas.
- Artículos con acceso al texto completo.
- Artículos de libre acceso.

#### 5.2.2. Criterios de exclusión

- Tesis de grado y posgrado.
- Opiniones en las revistas.

- Estudios fuera del periodo previsto.
- Estudios que no guarden relación con el tema de la investigación.
- Resumen de conferencias, comentarios, editoriales, protocolos, noticias y análisis secundarios.

### 5.3 Fuentes de información

La búsqueda se realizó en las bases de datos potenciales de información: Pubmed, Scielo, Elsevier y Cochrane Library. La búsqueda se ejecutó en publicaciones a partir del año 2013. No se realizó el cribado de literatura gris para esta revisión.

### 5.4 Estrategia de búsqueda y selección del estudio

Para la identificación y búsqueda de las publicaciones se aplicó el método PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis) (Page et al., 2021). Para la búsqueda de la información se utilizaron los términos MeSH (Medical Subject Headings): "dengue", "dengue virus", "PCR", "molecular methods", "nested pcr", "RT-PCR", "serotipos del dengue", "sensitivity", "specificity", "effectiveness", "prevalence" y los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) "Dengue", "Virus del Dengue", "Aedes", "Virus", "Sensibilidad", "Especificidad", "Técnicas de Diagnóstico Molecular"; "Molecular"; "Reacción en Cadena de la Polimerasa"; "LAMP" estos se asociaron a través de los operadores booleanos "AND" con las siguientes combinaciones:

- ((dengue) AND (serotypes)) AND (molecular detect)
- ((pcr) AND (dengue serotypes)) AND (detect)
- (molecular techniques) AND (dengue serotypes)
- (((sensitivity) AND (specificity)) AND (molecular techniques)) AND (dengue)
- ((((((dengue) AND (pcr)))) AND (rt pcr)) AND (nested pcr)) AND (real time pcr)

Para esta revisión sistemática, se seleccionaron los documentos en idioma inglés y español publicados en los últimos 10 años, como se estableció en los criterios de elegibilidad, no se encontraron documentos en portugués.

Posterior a la búsqueda minuciosa de la información en las bases de datos establecidas en la metodología, se realizó un cribado inicial, procedimiento en el que se aplicó la herramienta de Covidence (Veritas Health Innovation, 2023) que sirvió para eliminar la mayoría de artículos duplicados, este proceso se afinó aplicando la herramienta Rayyan (Ouzzani M. et al., 2016) de forma manual. En segundo lugar, con Rayyan, se seleccionaron los artículos que incluyeron los términos de búsqueda en el título y/o resumen. Posteriormente, los artículos elegidos del paso anterior se seleccionaron en función de si se cuenta con el texto completo o no, verificando el link/doi del artículo correspondiente. Finalmente, los artículos a texto completo se revisaron detalladamente para determinar si cumplen o no los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos.

Se obtuvo un total de 2.095 estudios mediante la búsqueda en bases de datos electrónicas aplicando los términos MESH y los operadores booleanos (PubMed=1665, SciELO=43, Elsevier=318 y Cochrane Library=69). Después de depurar y eliminar los duplicados (689) utilizando las herramientas mencionadas se fijaron 1.404 estudios. Posteriormente, se recuperó un total de 115 estudios relevantes seleccionados de acuerdo con el título y resumen, y su relación con el tema. A partir de estos estudios se determinaron 86 de acceso gratuito a texto completo que, posteriormente, se les aplicó los criterios de elegibilidad establecidos, excluyendo un total de 60 artículos y recuperando un total de 26 para esta revisión (**Anexo 2**).

## **5.5 Proceso de extracción y recopilación de datos**

Con el listado final de los artículos seleccionados, se procedió a extraer la información más relevante de cada estudio, elaborando una tabla de extracción de datos y características (**Anexo 3**), en donde se registraron las características principales de cada artículo, como: título, autor, año, población, objetivos, tipo de estudio y DOI, esto permitió recopilar la información sistematizada para su análisis posterior.

En el **Anexo 3** se representan las principales características de los estudios incluidos para la presente revisión sistemática. De los artículos seleccionados para la revisión (26) la mayoría se desarrollaron en Asia (15), seguidos de América (8), África (2) y Europa (1). Todos los artículos revisados y evaluados pertenecen a estudios de precisión de pruebas diagnósticas. De todos los



artículos utilizados en esta revisión, solamente uno se encontraba disponible en idioma español, el resto (25) corresponden a artículos redactados en inglés. El tamaño de las muestras seleccionadas en cada estudio fue muy variable, desde un mínimo de 31 en un estudio desarrollado en Tanzania, en 2013, hasta un máximo de 305 muestras en un estudio de 2013 que no especifica el lugar. Las publicaciones registradas en el 2013, 2015 y 2016 abarcan el 19,2% cada una, en el 2014 un 11,6%, en el 2019 y 2020 un 7,6% cada una y en los años 2017, 2018, 2022 y 2023 un 3,9% cada una.

En general, los objetivos de los artículos seleccionados tenían el enfoque de evaluar, comparar, desarrollar o informar de las diferentes técnicas moleculares que se utilizan para la detección y serotipificación del dengue, así como las modificaciones y sistemas que las distintas casas comerciales presentan para su aplicación, desde los procedimientos de RT-PCR en tiempo real establecidos por los CDC (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades), métodos singleplex, dúplex y multiplex, hasta técnicas moleculares modificadas como LAMP (Amplificación isotérmica mediada por LOOP) tolerante a desajustes, análisis que se especificará en las tablas posteriores.

## **5.6 Lista de datos**

Se definieron las variables a considerar en cada uno de los estudios para dar respuesta a cada uno de los objetivos planteados en la presente investigación (**Anexo 3**).

## **5.7 Evaluación de la calidad de los artículos**

### ***5.7.1 Riesgo de sesgo entre los estudios***

El riesgo de sesgo para cada artículo seleccionado se evaluó utilizando la herramienta JBI para estudios de precisión de pruebas diagnósticas (Campbell et al., 2020). JBI es una herramienta para las revisiones sistemáticas aplicada principalmente en el ámbito científico, ayuda a evaluar la confiabilidad, relevancia y resultados de los artículos publicados. El objetivo de la evaluación es determinar en qué medida ha tenido en cuenta el autor la posibilidad de sesgo en su diseño, realización y análisis. El formato para evaluar estudios de precisión de pruebas diagnósticas consta de 10 preguntas relacionadas al desarrollo del estudio en cada fase, la calificación de cada pregunta se la asigna la persona que evalúa los estudios que utilizará en su revisión sistemática con las

opciones de respuesta: Si, No, Poco Claro y No aplica. Se realizó el conteo de los “Si” de las preguntas para cada artículo y se lo dividió para el número total de preguntas, multiplicando por 100, se obtuvo el porcentaje de sesgo. El riesgo de sesgo se determinó con los siguientes límites: riesgo bajo, si el 70% de las respuestas obtuvieron un puntaje afirmativo; riesgo moderado, si el 50% al 69% de las respuestas obtuvieron un puntaje afirmativo; y, alto riesgo, si las preguntas obtuvieron porcentajes menores al 50% en su puntaje afirmativo (Goplen M. et al., 2019).

La evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la presente revisión se realizó de manera minuciosa utilizando la herramienta JBI para estudios de precisión de pruebas diagnósticas. En total, se evaluaron 26 estudios para determinar su calidad metodológica, del total, 3 presentaron riesgo de sesgo moderado en la evaluación de su calidad con un porcentaje dentro del rango de 50% y 69% y 23 estudios que presentaron riesgo bajo con un porcentaje mayor al 70% indicando fiabilidad en los resultados y un manejo metodológico adecuado. No se encontraron estudios que presenten calidad de sesgo alta por lo que todos los estudios que se incluyeron no presentaron deficiencias significativas en el diseño o la ejecución. Como resultado de esta evaluación se incluyeron los 26 estudios para el análisis de los resultados finales, garantizando la integridad y validez de los hallazgos obtenidos en la presente revisión. Los resultados de la evaluación de la calidad de cada artículo se detallan en el **Anexo 4**.

### ***5.7.2 Evaluación de la calidad de la revisión sistemática***

El sesgo de la presente revisión sistemática se evaluó siguiendo la declaración PRISMA (Publicación de revisiones sistemáticas y metanálisis). La declaración PRISMA consiste en un documento extenso en el que se detalla la explicación y justificación de cada uno de los 27 ítems sobre la reproductibilidad, evaluación del sesgo y aplicabilidad propuestos que sirve de orientación o guía para la publicación de revisiones sistemáticas. Para evaluar el grado de sesgo se le asignó una de tres respuestas: "Sí" para el cumplimiento total; «parcial» para el cumplimiento parcial; y "No" por incumplimiento a cada ítem de la lista de verificación. La interpretación del riesgo de sesgo se la realiza en porcentaje: menor o igual al 70% contabilizando los ítems evaluados positivos significa un riesgo bajo, entre 50% al 69% el riesgo es moderado y menor al 50% el riesgo es alto (Ge L. et al., 2014).

El desarrollo de la presente evaluación sistemática también fue rigurosamente evaluado en cuanto a su calidad y la presencia de sesgos (**Anexo 5**). En su mayoría, el estudio siguió las pautas del sistema PRISMA, con un porcentaje del 77,7% de resultados positivos, se garantizó el bajo porcentaje de sesgo que conlleva este estudio. La declaración prisma es una guía para mejorar la integridad de las revisiones sistemáticas, por lo tanto, esta revisión se realizó con transparencia y confiabilidad garantizando resultados precisos (Page et al., 2021).

## **5.8 Síntesis de resultados**

Los resultados de los artículos seleccionados se presentaron en tablas de acuerdo a las variables estudiadas que se identificaron durante la revisión sistemática, analizando los factores que estén estrechamente asociados a “Serotipos virales de dengue, técnicas moleculares empleadas para la detección del DENV y la sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares”.

## 6. Resultados

A continuación, se presentan los resultados y hallazgos recuperados de los 26 estudios seleccionados en función de los objetivos establecidos al inicio de esta revisión sistemática. Cada resultado se presenta y se detalla en las tablas de tal manera que, su revisión y análisis sea claro y conciso. La estructuración de las tablas para cada resultado permite la interpretación y comprensión secuencial de los datos, evaluando activamente la temática establecida de acuerdo a los objetivos.

En la **Tabla 1** se presentan los resultados obtenidos luego de un análisis exhaustivo de la información de cada estudio para dar cumplimiento al primer objetivo planteado. En relación a las principales técnicas moleculares utilizadas para la detección de dengue, en su mayoría, la técnica que más se utiliza es la dispuesta por los CDC, la RT-qPCR, así lo evidencian en sus estudios Neeraja et al. en 2015 (2), Waggone et al. en 2013 (6), Lau et al. en 2015 (11), Waggone et al. en otro estudio en 2013 (16), Go et al. en 2016 (17), Teoh et al. en 2013 (19), Santiago et al. en 2013 (21), Campubrí et al. en 2023 (23) que lo utilizaron para la evaluación del rendimiento o como método comparativo. Además, otros estudios aplican como base la RT-qPCR con distintas modificaciones con el fin de aumentar su eficacia como evidencian Sasmono et al. en 2013 (1), Waggone et al. 2013 (6), Simmons et al. en 2016 (7), Chakravarti et al. en 2016 (8), Waggone et al. 2016 (9), Waggone et al. 2013 (10), Songjaeng et al. en 2022 (13), Najioullah et al. en 2014 (24) y Mat y Shueb en 2017 (25).

Otra técnica comúnmente utilizada es la RT-LAMP que la describen como un método reciente altamente eficaz para la detección de dengue como se observa en los estudios de Neeraja et al. en 2015 (2), Hu et al. en 2015 (4), Lau et al. en 2015 (11), López en 2018 (12) y Zhou et al. en 2019 (14). De igual forma, la RT-PCR convencional se observó mayormente como método de comparación para evaluar otras técnicas en Sasmono et al. en 2013 (1), Neeraja et al. en 2015 (2), Hu et al. en 2015 (4), Chakravarti et al. en 2016 (8), Zhou et al. en 2019 (14), Cabral et al. en 2016 (15), Waggone et al. en 2013 (16), Teoh et al. en 2013 (19) y Curren et al. en 2020 (26). En la **Tabla 1** se especifican otros métodos utilizados para la detección de dengue, pero que no son usados frecuentemente como los descritos anteriormente.

**Tabla 1**

*Resultados del objetivo 1 “Identificar las principales técnicas moleculares utilizadas para la detección y serotipificación del dengue”*

<b>N°</b>	<b>Autores</b>	<b>Tipo de estudio</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Técnicas utilizadas</b>
1	Sasmono R. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento del ensayo de dengue simplexa mediante una comparación con la RT-PCR convencional y la RT-PCR en tiempo real SYBR Green.	-RT-PCR Convencional. -RT-PCR en tiempo real SYBR GREEN. -Dengue Simplexa (RT-PCR en tiempo real).
2	Neeraja M. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo RT-LAMP para la detección y el serotipado de la infección por DENV dirigida a las regiones específicas del serotipo del gen NS1 utilizando un fluorómetro en tiempo real.	-NS1 RT-PCR + NS1 Ag -CDC real time PCR + NS1Ag -RT-LAMP + NS1Ag
3	Tsai J. et al., 2019	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento de los cuatro reactivos de serotipado DENV en los dispositivos POCKIT y POCKIT Micro Plus PCR para la detección de los respectivos serotipos DENV.	-RT-iiPCR/POCKIT
4	Hu S. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo específico, sensible y robusto de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcriptasa inversa (RT-LAMP) para la detección y diferenciación de serotipos DENV1-4.	-RT-LAMP -RT-PCR -qPCR
5	Chen H. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y evaluar un ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real basado en SYBR Green I para detectar, diferenciar y cuantificar DENV y CHIKV.	-RT-PCR real time multiplex SYBR GREEN
6	Waggoner J. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Informar sobre el desarrollo de una RT-qPCR controlada internamente específica de la especie que utiliza sondas de hidrólisis para la detección de DENV (denominado ensayo pan-DENV).	-RT-qPCR pan-DENV -RT-qPCR multiplex -hemi-nested PCR -RT-qPCR (ensayo altona)
7	Simmons M. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y validar una PCR multiplex de transcriptasa inversa de un solo paso (RT-PCR) para detectar, cuantificar y diferenciar simultáneamente entre cuatro serotipos de DENV (pan-DENV) y el virus chikungunya.	-RT-PCR multiplex en tiempo real, de un solo paso (DENV/CHIK TaqMan)

N°	Autores	Tipo de estudio	Objetivos	Técnicas utilizadas
8	Chakravarti A. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Comparar la eficacia de dos métodos moleculares de detección y tipificación, a saber, la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa multiplex (RT-PCR) y el ensayo Hybprobe en tiempo real, utilizando un panel de diluciones conocidas de cuatro cepas de virus del dengue de referencia y un panel de sueros recogidos de pacientes con sospecha clínica de dengue.	-Hybprobe en tiempo real (PCR dúplex en tiempo real) -RT-PCR multiplex
9	Waggoner J. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y evaluar una RT-PCR multiplex en tiempo real de reacción única (rRT-PCR) para la detección y diferenciación de DENV y CHIKV (la rRT-PCR pan-DENV-HIKV).	-RT-qPCR pan-DENV
10	Waggoner J. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar una PCR multiplex, en tiempo real, con transcriptasa inversa (rRT-PCR) para la detección, cuantificación y serotipado de virus del dengue en una sola reacción.	-RT-qPCR multiplex de reacción única -RT-PCR seminested
11	Lau Y. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un método RT-LAMP multiplex para detectar infecciones por el virus del dengue utilizando un solo tubo.	-RT-LAMP -ELISA -RT-qPCR
12	Lopez B. et al., 2018	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar 4 ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP) de un solo paso, en tiempo real, para la detección de serotipos del virus del dengue (DENV) considerando 2.056 secuencias DENV del genoma completo.	-RT LAMP
13	Songjaeng A. et al., 2022	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar una RT-PCR en tiempo real de un solo tubo específica para DENV 3'-UTR para la detección y cuantificación de pan-DENV sin reactividad cruzada a otros flavivirus.	-RT qPCR singleplex
14	Zhou Y. et al., 2019	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Informar un nuevo ensayo LAMP tolerante a desajustes y su aplicación en la detección de virus del dengue (DENV).	-RT-LAMP tolerante a desajustes -NS1 de detección de antígenos -RT-PCR específica -RT-LAMP convencionales

N°	Autores	Tipo de estudio	Objetivos	Técnicas utilizadas
15	Cabral M. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar una metodología basada en Luminex para la identificación y diferenciación de serotipos de DENV, ofreciendo un uso potencial en el diagnóstico precoz de la infección por DENV.	-RT-PCR/Luminex
16	Waggoner J. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Comparar una rRT-PCR multiplex DENV desarrollada en laboratorio con el ensayo DENV-1-4 de los CDC utilizando 199 muestras clínicas recolectadas de casos sospechosos de dengue entre el día 2 y 9 de la enfermedad.	-RT-PCR multiplex -Ensayo DENV-1-4 de los CDC (RT-PCR en tiempo real)
17	Go Y. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo diagnóstico novedoso, económico y fácil de usar basado en un método de PCR isotérmica aislada con transcripción inversa (RT-iiPCR) para la detección de los cuatro serotipos de DENV en muestras clínicas.	-RT-iiPCR pan-DENV -RT-qPCR
18	Saengsawang J. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar y comparar el rendimiento de dos ensayos de PCR en tiempo real utilizando la transcripción inversa anidada (RT)-PCR como método de referencia.	-Kit abTES DEN 5 (qPCR) -innuDETECT Dengue TwoStep (qPCR)
19	Teoh B. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa de un solo tubo (RT-LAMP) con un conjunto de nueve cebadores para la detección de los cuatro serotipos de DENV y sus diferentes genotipos.	-RT-LAMP -RT-LAMP + ELISA IGG IGM -RT-qPCR
20	Stittleburg V. et al., 2020	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Comparar nuevas PCR isotérmicas aisladas con transcripción inversa (los conjuntos de reactivos POCKIT DENV y YFV) con rRT-PCR desarrolladas en laboratorio para ambos virus utilizando muestras clínicas y cepas virales de diferentes regiones endémicas.	-POCKIT (PCR isotérmicas aisladas con transcripción inversa)
21	Santiago G. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Informar el rendimiento del ensayo RT-PCR en tiempo real DENV-1-4 de los CDC, incluida su capacidad para detectar DENV de múltiples linajes, y la sensibilidad clínica y la especificidad para el diagnóstico en casos humanos sospechosos de dengue.	-RT-qPCR CDC

N°	Autores	Tipo de estudio	Objetivos	Técnicas utilizadas
22	Abd W. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y evaluar ensayos de RPA con transcripción inversa en el punto de necesidad (RT-RPA) para la detección de DENV1-4 sin diferenciación entre los serotipos con muestras de Senegal y Tailandia.	-RT-RPA
23	Camprubí D. et al., 2023	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar un panel prototipo BioFire®FilmArray® de pruebas de amplificación de ácidos nucleicos multiplex (NAAT) dirigidas a diferentes patógenos relevantes en viajeros que regresan con fiebre.	-BioFire® multiplex-PCR panel -RT-qPCR
24	Najioullah F. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento de 4 kits comerciales de RT-PCR en tiempo real DENV desarrollados recientemente.	-Geno-Sen -RealStar -Simplexa -Liferiver
25	Mat J. y Shueb R., 2017	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento diagnóstico de la PDR no estructural 1 (NS1) y los kits de diagnóstico de RT-PCR en tiempo real en 86 muestras de suero de pacientes.	ENSAYOS RT-qPCR: RealStar Dengue GenoAmp Trioplex GenoAmp Dengue
26	Curren E. et al., 2020	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el uso de sueros secos con papel de filtro para la detección del ARN del virus del dengue (DENV) durante un brote en Samoa Americana.	-RT-PCR en el suero seco con papel de filtro

*Nota.* RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa); qPCR (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real); RPA (Reacción mediada por recombinasa y polimerasa); RT-LAMP (Amplificación isotérmica mediada por bucle en transcriptasa inversa); CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades); iiPCR (Reacción en cadena de la polimerasa isotérmica aislada).



En relación a los serotipos detectados por las principales técnicas moleculares, la **Tabla 2** detalla los resultados. Sasmono et al. en 2014 (1) evidenció la circulación de los 4 serotipos en Indonesia con prevalencia del DENV-1 (D1=76, D2=14, D3=11, D4=32). Así mismo, la circulación de los 4 serotipos también la evidencian los estudios de Neeraja et al. en 2015 en India (2) con prevalencia del DENV-3 (D1=4, D2=60, D3=80, D4=60), Chen et al. en 2015 en Singapur (3) con mayor incidencia de DENV-2 y DENV-3 (D1=29, D2=30, D3=30, D4=17), Songjaeng en 2022 en Tailandia (5) encontró mayor incidencia del serotipo 4 (D1=39, D2=39, D3=39, D4=44), Zhou et al. en 2019 en China (6) con prevalencia de DENV-1 (D1=58, D2=5, D3=46, D4=11), Stittleburg et al. en 2020 realizó un estudio con muestras de Paraguay, Guatemala y Sri. Lanka, encontrando mayor prevalencia del DENV-1 en general (D1=24, D2=3, D3=18, D4=3), por otra parte, Santiago et al. en 2013 (8) realizó su ensayo con muestras tomadas en Puerto Rico y Costa Rica con prevalencia del DENV-1 (D1=16, D2=11, D3=15, D4=5), Najioullah et al, en 2014 en su estudio con muestras obtenidas en Francia (9) evidenció mayor incidencia de los serotipos DENV-1 y DENV-4 (D1=46, D2=37, D3=33, D4=46) y Mat et al. en 2017 en Malasia (10) demostró la prevalencia del DENV-1 (D1=14, D2=8, D3=2, D4=1). Por otra parte, el estudio de Waggone et al. en 2016 en Nicaragua (4) detectó solamente 3 serotipos circulantes en la población, con prevalencia del DENV-3 (D1=22, D2=12, D3=35).

**Tabla 2**

*Resultados del objetivo 2 “Indicar los serotipos de dengue identificados mediante las principales técnicas moleculares”*

<b>N°</b>	<b>Autores</b>	<b>Tipo de estudio</b>	<b>Objetivos</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>
1	Sasmono R. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detectar la infección por dengue en pacientes reclutados durante la vigilancia en ocho ciudades de Indonesia.	76	14	11	32
2	Neeraja M. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detección y el serotipado de la infección por DENV en pacientes que se presentan en un hospital de atención terciaria en Hyderabad, India.	4	60	80	4
3	Chen H. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detectar, diferenciar y cuantificar DENV y CHIKV y simultáneamente para serotipo DENV en Singapur.	29	30	30	17
4	Waggoner J. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detección, cuantificación y serotipado de virus del dengue en una sola reacción en niños nicaragüenses.	22	12	35	-
5	Songjaeng A. et al., 2022	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detección y cuantificación de pan-DENV en Tailandia.	39	39	39	44
6	Zhou Y. et al., 2019	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detección de virus del dengue (DENV) en China.	58	5	46	11
7	Stittleburg V. et al., 2020	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Comparar nuevas PCR isotérmicas aisladas con transcripción inversa para detectar DENV utilizando muestras clínicas de Paraguay, Guatemala y Sri. Lanka.	24	33	18	3

<b>N°</b>	<b>Autores</b>	<b>Tipo de estudio</b>	<b>Objetivos</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>
<b>8</b>	Santiago G. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detección de DENV de múltiples linajes para el diagnóstico en casos humanos sospechosos de dengue en Puerto Rico y Costa Rica.	16	11	5	15
<b>9</b>	Najjioullah F. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detectar, tipificar y/o cuantificar el DENV durante brotes en 2010-2011 en Francia.	46	37	33	46
<b>10</b>	Mat J. et al., 2017	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Detectar DENV en muestras de suero de pacientes en Malasia.	14	8	2	1

*Nota.* DENV-1 (D1); DENV-2 (D2); DENV-3 (D3); DENV-4 (D4).

En la **Tabla 3**, se detallan los resultados que se asocian al cumplimiento del objetivo 3, sobre la sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares en su aplicación para la detección del virus del dengue. En el estudio de Sasmono et al. en 2021 (1) se evaluó el rendimiento de un método de RT-PCR en tiempo real denominado dengue simplexa, en el que determinaron una sensibilidad y especificidad del 100%, igualmente, Najioullah et al. en 2014 (24) evaluó el mismo método detectando una sensibilidad de 93,2% y una especificidad del 100%. En otro estudio, Neeraja et al. en 2015 (2) evaluó la utilidad clínica de un ensayo de RT-LAMP específico de la región NS1 del genoma del DENV, demostrando una sensibilidad y especificidad del 100%. Este ensayo también fue evaluado en otros estudios como Hu et al. en 2015 (4) que demostró una sensibilidad de 98,9% y la especificidad del 100%, Lau et al. en 2015 (11) con S=100% y E=100%, López et al. en 2018 (12) demostró una sensibilidad del 95,8% y especificidad del 100%; Zhou et al. en 2019 (14) evaluó la eficacia de una RT-LAMP tolerante a desajustes con S=94,8% y E=100%, y Teoh et al. en 2013 (19) demostró S=97,7% y E=99,6% combinando la RT-LAMP con el ensayo ELISA.

Tsai et al. en 2019 (3) y Stittleburg et al. en 2020 (20), evaluaron el rendimiento de una RT-PCR isotérmica aislada en el dispositivo móvil POKKIT que se puede utilizar en lugares remotos con facilidad, los resultados fueron no comparables, el primero determinó una sensibilidad del 100% para cada serotipo (exceptuando el DENV-2 con una sensibilidad del 95,2%) y especificidad del 100% (excepto el DENV-3 con una especificidad del 95%), y el segundo, una sensibilidad de detección 87,2% y especificidad del 98,2%, sin diferenciación de serotipos.

El método de RT-PCR en tiempo real se evaluó en formato singleplex, dúplex y multiplex, en diferentes estudios, Songjaeng et al. en 2022 (13) evidenció una alta sensibilidad y especificidad de la RT-qPCR singleplex, con 96,9% y 100% respectivamente, Chakravarti et al. en 2016 (8) evaluó la RT-qPCR dúplex con una sensibilidad del 97,3% y especificidad del 100%, Waggoner et al. en 2013 en dos estudios (6 y 10) evaluó y comparó la RT-qPCR múltiple con sensibilidad y especificidad de 100% y 86,8%, y 95,6% y 100% respectivamente, Simmons et al. en 2016 (7) detectó valores similares de S=95% y E=100%. Una modificación de este método, es la RT-qPCR multiplex SYBR Green, evaluada por Chen et al. en 2015 (5) que demostró una sensibilidad y especificidad del 100%. De igual manera, Waggoner et al. en 2016 (9) y Go et al. (17) en el mismo año, evaluaron el ensayo Pan-DENV basado en una RT-qPCR con resultados altamente eficaces de sensibilidad y especificidad de 98,7% y 100% y 90,5% y 98,3% respectivamente. Cabral et al.

en 2016 (15) evaluó una RT-PCR combinada con detección con fluorescencia (Luminex) que demostró una sensibilidad de 86,7% y una especificidad del 100%.

Saengsawang et al. en 2014 (18) evaluó el rendimiento de dos métodos basados en PCR en tiempo real, abTES con S=97,4% y E=100% y InnuDETECT con S=44,4% y E=100%, siendo el primero mucho más sensible. Santiago et al. en 2013 (21) determinó el rendimiento de la RT-PCR de los CDC demostrando su alta eficacia con una sensibilidad y especificidad de 97,9% y 100% respectivamente, explicando que los métodos utilizados para la detección del dengue, deben tener sensibilidades que se acerquen a esos valores para que se garantice su fiabilidad.

Abd et al. en 2015 (22) evaluó el rendimiento de la amplificación mediante recombinasa y polimerasa (RPA) obteniendo valores de sensibilidad del 72% y especificidad del 100%. Mat y Shueb en 2017 (25) compararon tres kits de RT-qPCR: Realstar dengue, Genoamp trioplex y Genoamp dengue que presentaron sensibilidades de 90,3%, 90,3% y 83,9% respectivamente, y especificidades del 100%. Finalmente, el estudio de Curren et al. en 2022 demostró la utilidad de utilizar suero seco en papel filtro para detectar dengue mediante un RT-PCR con valores moderados de sensibilidad del 78% y especificidad del 100% presuntamente ocasionados por degradación del ARN.

**Tabla 3**

*Resultados del objetivo 3 “Evaluar la sensibilidad y especificidad de los métodos moleculares utilizados en la detección del dengue y sus serotipos”*

Nº	Autores	Tipo de estudio	Técnica empleada	S	E
1	Sasmono R. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR.	95%	100%
			RT-PCR real time SYBR GREEN.	97,5%	100%
			Dengue Simplexa (RT-PCR en tiempo real).	100%	100%
2	Neeraja M. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	NS1 RT-PCR	94,6%	100%
			CDC real time PCR + NS1Ag	100%	100%
			RT-LAMP + NS1	100%	100%
3	Tsai J. et al., 2019	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-iiPCR/POCKIT	DENV-1 100%	100%
				DENV-2 95,2%	100%
				DENV-3 100%	95%
				DENV-4 100%	100%
4	Hu S. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-LAMP	98,9%	100%
			RT-PCR	84,7%	100%
			PCR real time (qPCR)	90,5%	100%
5	Chen H. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR real time multiplex SYBR GREEN	100%	100%
6	Waggoner J. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	qRT-PCR pan-DENV	98,5%	85,7%
			qRT-PCR multiplex	100%	87,8%
			hemi-nested PCR	78,8%	93,9%
			qRT-PCR (ensayo altona)	72,3%	100%
7	Simmons M. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR multiplex real time onestep (DENV/CHIK TaqMan)	95%	100%
8	Chakravarti A. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Hybprobe real time (RT-PCR dúplex real time)	97,3%	100%
			RT-PCR multiplex	18,1%	100%

Nº	Autores	Tipo de estudio	Técnica empleada	S	E
9	Waggoner J. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	qRT-PCR pan-DENV	98,7%	100%
10	Waggoner J. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	qRT-PCR multiplex onestep RT-PCR hemi-nested	95,6% 74,6%	100% 100%
11	Lau Y. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-LAMP ELISA qRT-PCR	100% 100% 85,2%	100% 52% 100%
12	Lopez B. et al., 2018	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-LAMP	95,8%	100%
13	Songjaeng A. et al., 2022	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR en tiempo real singleplex	96,9%	100%
14	Zhou Y. et al., 2019	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-LAMP tolerante a desajustes NS1 de detección de antígenos RT-PCR específica RT-LAMP convencional	94,8% 92,2% 78,4% 86,9%	100% 100% 100% 100%
15	Cabral M. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR/Luminex	86,7%	100%
16	Waggoner J. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR multiplex Ensayo DENV-1-4 de los CDC (RT-PCR en tiempo real)	97,4% 87,1%	90,9% 97,7%
17	Go Y. et al., 2016	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-iiPCR pan-DENV RT-qPCR	90,5% 98,6%	98,3% 95,8%
18	Saengsawang J. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Kit abTES DEN 5 (qPCR) innuDETECT Dengue TwoStep (qPCR)	97,4% 44,4%	100% 100%
19	Teoh B. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-LAMP RT-LAMP + ELISA IGG IGM qRT-PCR	43,3% 97,7% 46,8%	- 99,6% -
20	Stittleburg V. et al., 2020	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	POCKIT (PCR isotérmicas aisladas con transcripción inversa)	87,2%	98,2%

Nº	Autores	Tipo de estudio	Técnica empleada	S	E
21	Santiago G. et al., 2013	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-qPCR CDC	97,92%	100%
22	Abd W. et al., 2015	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-RPA RT-qPCR	72% 94,4%	100% 100%
23	Camprubí D. et al., 2023	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	BioFire® multiplex-PCR panel DENV NS1+NAAT	92,9% 80,8%	99,5%
24	Najioullah F. et al., 2014	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Geno-Sen RealStar Simplexa Liferiver	85,2% 83,3% 93,2%	100% 98,5% 100%
25	Mat J. y Shueb R., 2017	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RealStar Dengue GenoAmp Trioplex GenoAmp Dengue	90,3% 90,3% 83,9%	100% 100% 100%
26	Curren E. et al., 2020	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	RT-PCR en el suero seco con papel de filtro	78%	100%

*Nota.* Sensibilidad (S); Especificidad (E); RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa); qPCR (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real); RPA (Reacción mediada por recombinasa y polimerasa); RT-LAMP (Amplificación isotérmica mediada por bucle en transcriptasa inversa); CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades); iiPCR (Reacción en cadena de la polimerasa isotérmica aislada).



## 7. Discusión

El dengue como enfermedad, constituye un problema de salud creciente a nivel mundial según las estadísticas actuales, específicamente en las zonas endémicas tropicales y subtropicales en Asia, América y África. La morbilidad de la enfermedad generalmente se da por la falta de conocimiento en los países de las zonas endémicas sobre la prevención y control de este patógeno, además de los climas que favorecen al desarrollo del mismo. El diagnóstico de esta enfermedad arboviral se lo confirma mediante laboratorio, utilizando las técnicas disponibles en el mercado, de acuerdo a la complejidad del laboratorio y sus exigencias, desde métodos indirectos de detección de anticuerpos, pruebas rápidas, ELISA, MAC-ELISA, hasta métodos directos que requieren de equipos, tiempo e infraestructura avanzada como el aislamiento viral y la detección del genoma (RT-PCR). Cada método presenta distintos grados de eficacia diagnóstica, que pueden ser demostrados a través de la sensibilidad y especificidad de los mismos, los avances científicos y tecnológicos han permitido el desarrollo y modificación de técnicas con niveles muy altos de eficacia diagnóstica que pueden ser rápidos y fáciles de aplicar. En el presente estudio se consideraron 26 artículos que incluyeron muestras de Asia, América, África y Europa, para analizar las pruebas moleculares utilizadas, los serotipos de dengue detectados y la sensibilidad y especificidad de los métodos utilizados.

Las técnicas moleculares han reemplazado al aislamiento viral como el nuevo estándar de oro para muestras de DENV en fase aguda, se encontró que las técnicas que más se utilizaron en los estudios evaluados fueron las basadas en RT-PCR en tiempo real, que presentan cierta ventaja sobre la RT-PCR convencional, los resultados se pueden obtener en un periodo de tiempo más corto y los riesgos de contaminación son menores, aunque el equipamiento es diferente, es más sencillo y económico aplicar la RT-PCR convencional (Sasmono et al., 2014). La RT-PCR en tiempo real también se puede realizar en formato multiplex para detectar los serotipos circulantes en una sola reacción, lo que permite mejorar el flujo de trabajo y disminuir la posible contaminación como sucede con técnicas comúnmente utilizadas como la RT-PCR convencional o la RT-PCR hemianidada (Waggoner et al., 2013). Otra modificación de la RT-PCR en tiempo real es la que utiliza sondas de hidrólisis para detectar dengue (PAN-DENV) que tiene la capacidad de detectar ARN viral en menor concentración, extendiendo el periodo en el que se puede realizar el diagnóstico molecular sin perder su eficacia (Waggoner et al., 2013).

Otro método que se evidenció su amplia aplicación en la presente revisión es la Amplificación Isotérmica Mediada por Bucle de Transcripción Inversa (RT-LAMP), considerada una técnica sencilla de utilizar, altamente sensible y específica, se realiza en un solo paso, por lo que el riesgo de contaminación disminuye, es una alternativa ideal para los métodos de RT-PCR convencionales (Maldonado et al. 2019). Otra ventaja que presenta este método es la capacidad de aplicarlo en lugares de atención primaria, fuera de los laboratorios de diagnóstico, en lugares de poca accesibilidad, donde se requiere un diagnóstico rápido, sensible y preciso (Lira et al., 2018). Así mismo, se evidencia el uso que aún recibe la RT-PCR convencional, que aún se utiliza en muchos laboratorios por su sencillez y facilidad de aplicar, aunque estudios han demostrado que existen técnicas más sensibles capaces de detectar cargas virales menores que esta técnica no es capaz de detectar. En la actualidad, gracias al desarrollo tecnológico y científico, se ha permitido el desarrollo o modificaciones de técnicas moleculares con altos grados de eficacia diagnóstica que son capaces de reemplazar al aislamiento viral considerado como el estándar de oro para la detección del dengue, que no se lo aplica debido a los costos y el periodo en que tarda (7-10 días) en dar un diagnóstico, entre ellas se encuentran, RT-PCR en tiempo real de un solo paso, algunas utilizan químicas de fluorescencia (SYBR green, Hyprobe y Taqman), amplificación mediada por bucle (RT-LAMP) o el ensayo RT-PCR en formato seco. Así mismo, cada técnica puede presentar variaciones en sus sistemas: singleplex, dúplex, fourplex o multiplex (Chakravarti et al., 2016). En esta revisión, la técnica más utilizada es la RT-qPCR, pero en términos de eficiencia clínica la RT-LAMP sería una mejor opción debido a las ventajas que ofrece para la detección del dengue.

En su mayoría, los estudios revisados demostraron la circulación de los cuatro serotipos de dengue en la población, principalmente en las ciudades del continente asiático, como Indonesia, India, Tailandia, China, Malasia y Singapur; seguidos de América, en Nicaragua, Guatemala, Puerto Rico, Costa Rica y Sri Lanka; y en Francia, Europa. Estos datos se asocian con la información epidemiológica proporcionada por la Organización Mundial de la Salud, en 2023: *“En la actualidad, la enfermedad es endémica en más de 100 países de las regiones de la OMS de África, las Américas, Asia Sudoriental, el Mediterráneo Oriental y el Pacífico Occidental. Las Regiones de las Américas, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental son las más gravemente afectadas y en Asia se concentra alrededor del 70% de la carga mundial de la enfermedad”*. Así mismo, se menciona que la enfermedad arboviral se está extendiendo hacia Europa, o hacia zonas no consideradas endémicas, debido a la migración, como consecuencia se observan brotes

fulminantes, como dato, en 2010 se desarrolló el primer brote de dengue en Francia y Croacia con transmisión local (OMS, 2023). En 1943 se aisló por primera vez el virus del dengue, y hasta el momento se han encontrado y oficializado 4 serotipos, a partir de los cuales algunos estudios han demostrado mayor severidad de los serotipos 2 y 3, asociados a la aparición de dengue grave (López y Gutiérrez, 2019). La detección de varios serotipos de dengue en una misma población es de importancia clínica, estudios han demostrado que la aparición de dengue en sus formas graves se asocia a personas que se infectaron con un serotipo (infección primaria) y se infectan nuevamente (infección secundaria) con un serotipo diferente (Jordá y Salvatierra, 2019). En los estudios analizados, el serotipo viral 1 (DENV-1) es el que se distribuye con mayor frecuencia junto a la co-circulación de al menos 3 serotipos, principalmente en países del continente asiático.

Las diferentes técnicas aplicadas para la detección de dengue presentan distintos grados de sensibilidad y especificidad, variables que pueden dar un acercamiento a la eficacia diagnóstica de cada técnica. En esta revisión sistemática se analizaron los datos de sensibilidad y especificidad de varias pruebas moleculares para evaluar el rendimiento clínico. Se observaron datos algo variables, específicamente en términos de sensibilidad, ya que la especificidad de las técnicas fue muy alta en todos los casos. Los valores más altos de sensibilidad se les atribuyen a las técnicas basadas en RT-PCR en tiempo real y sus modificaciones y variaciones en los sistemas (RT-qPCR SYBR green, PanDENV, simplexa, singleplex y dúplex), RT-LAMP y variaciones (RT-LAMP tolerante a desajustes, RT-LAMP NS1) con valores mayores al 95%. Los niveles elevados de sensibilidad y especificidad que demuestran estas técnicas son beneficiosos para el diagnóstico rápido y preciso de las infecciones por dengue. Por otra parte, es una práctica común que, en un resultado negativo de RT-PCR convencional en fase aguda, requiera de la recolección de una segunda muestra en la fase convaleciente para identificar IgM-DENV, en contraste, los avances tecnológicos han permitido el desarrollo de ensayos basados en RT-PCR cada vez más sensibles, rápidos y asequibles que permiten el uso de solo una muestra en fase aguda para confirmar la infección, con sus altos niveles de sensibilidad y especificidad, se evitarían resultados falsos positivos o negativos que pueden entorpecer el manejo clínico de los pacientes, además de generar costos innecesarios (Santiago et al., 2013). Algunas características que hacen de estos métodos, lo más eficaces posibles, son el uso de controles internos, la detección en una sola reacción/un solo tubo, disminuyendo la duración de la prueba y evitando riesgos de contaminación, el uso de reactivos específicos y métodos automatizados (Sasmono, 2014). Los factores que determinan los bajos

niveles de sensibilidad se les puede atribuir al riesgo elevado de contaminación de las técnicas en su proceso extensos de desarrollo, la capacidad de detección de la carga viral, insuficiencia de ADNc en rondas posteriores de amplificación, y degradación del ARN viral al momento de la conservación (Chakravarti et al., 2016) (Curren et al., 2020).

### **7.1 Limitaciones**

Esta revisión sistemática fue desarrollada con algunas limitaciones. Durante la revisión y selección de estudios, se encontró varios ensayos actualizados que tenían estrecha relación con el tema y los objetivos, pero se encontraban con acceso limitado por previo pago y suscripción a las revistas y tuvieron que ser excluidos. Otro limitante fue que la mayoría de los estudios fueron realizados con muestras del continente asiático, por lo que fue difícil hacer una comparación equitativa entre poblaciones. A pesar de las limitaciones, este estudio fue realizado con información importante recopilada para evaluar la actualidad de las pruebas moleculares y la detección de los serotipos virales de dengue.

## 8. Conclusiones

Se han identificado los principales métodos moleculares para la detección del dengue y sus serotipos, siendo estos la RT-PCR en tiempo real, sus variaciones con marcadores fluorescentes (SYBR green, Taqman, Hyprobe) y variaciones en los sistemas (singleplex, dúplex y multiplex), la Amplificación Isotérmica Mediada por LOOP/bucle con transcriptasa inversa (RT-LAMP), sus modificaciones y la RT-PCR convencional. Cada técnica presenta características que favorecen su elección, como la accesibilidad, rapidez y eficacia diagnóstica.

Se determinaron los serotipos detectados por las técnicas moleculares en varias regiones del mundo, principalmente en Asia y América, existiendo gran variabilidad en su distribución y circulación de todos los serotipos, en su mayoría con prevalencia de DENV-1 o DENV-3, debido a la ubicación geográfica en áreas endémicas de esta enfermedad y los factores relacionados. El conocimiento de la epidemiología de la enfermedad en una población puede ayudar al tratamiento y proyección de la misma.

Se evaluó la sensibilidad y especificidad de varios métodos moleculares utilizados para la detección del dengue, en general, la mayoría de ellos presentó altos niveles de especificidad y variaciones notables en la sensibilidad, entre los que destacan la RT-PCR en tiempo real y sus variantes, RT-LAMP y sus variantes y la PCR en tiempo real dúplex; mientras que los que demostraron menores niveles de eficacia diagnóstica fueron la RT-PCR múltiplex, la RT-PCR hemi-anidada, y la PCR en tiempo real Innudetect.

## **9. Recomendaciones**

Los laboratorios y centros para la detección y control de dengue deberían aplicar métodos que sean altamente eficaces y eficientes clínicamente para el manejo adecuado de los pacientes, analizando factores como la rapidez, sensibilidad y especificidad, los costes y accesibilidad.

Además, se recomienda la aplicación de métodos rápidos y sencillos que puedan aplicarse en campo para el control de la enfermedad en zonas endémicas de poca accesibilidad y de bajos recursos económicos.

Es importante la detección de los serotipos virales de dengue que circulan en una población, debido al riesgo elevado de padecer complicaciones como el dengue grave o infecciones secundarias asociadas.

Es recomendable que los laboratorios se guíen en los avances científicos y tecnológicos que mejoran la sensibilidad y especificidad de las diversas técnicas y se mantengan en actualización constante para su aplicación.

## 10. Bibliografía

- Abd, A., Patel, P., Faye, O., Thaloengsok, S., Heidenreich, D., Matangkasombut, P., . . . Weidmann, M. (2015). Recombinase Polymerase Amplification Assay for Rapid Diagnostics of Dengue Infection. *PLoS One*, 10(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129682>
- Álvarez, A., & Vargas, R. (2019). Dengue: presentación e importancia de factor activación de plaquetas en la evolución de la fase crítica. *Revista Médica Sinergia*, 4(11), e294. <https://doi.org/10.31434/rms.v4i11.294>
- Cabral, M. J., Peralta, R. H., Cavalcanti, M. G., Puccioni-Sohler, M., Carvalho, V. L., Vasconcelos, P. F., & Peralta, J. M. (2016). A Luminex-based single DNA fragment amplification assay as a practical tool for detecting and serotyping dengue virus. *Journal of Virological Methods*, 236, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.07.003>
- Camprubí, D., Cobuccio, L., Broucke, S. V., Balerdi-Sarasola, L., Genton, B., Bottieau, E., . . . Vaughn, M. (2023). Clinical evaluation of BioFire® multiplex-PCR panel for acute undifferentiated febrile illnesses in travellers: a prospective multicentre study. *J Travel Med*, 30(3). <https://doi.org/10.1093/jtm/taad041>
- Carr, J., Williams, D., & Hayden, R. (2010). Detección molecular de múltiples virus respiratorios. In R. M. Nakamura, *Diagnóstico molecular Técnicas y aplicaciones para el laboratorio clínico* (pp. 289-300). Elsevier .
- Chakravarti, A., Chauhan, M. S., Banerjee, S., & Roy, P. (2016). Comparison of multiplex RT-PCR and real-time HybProbe assay for serotyping of dengue virus using reference strains and clinical samples from India. *Indian J Pathol Microbiol*, 59(3), 330-334. <https://doi.org/10.4103/0377-4929.188141>
- Chen, H., Parimelalagan, M., Lai, Y. L., Lee, K. S., Koay, E. S.-C., Hapuarachchi, H. C., . . . Chu, J. J. (2015). Development and Evaluation of a SYBR Green-Based Real-Time Multiplex RT-PCR Assay for Simultaneous Detection and Serotyping of Dengue and Chikungunya Viruses. *J Mol Diagn*, 17(6), 722-728. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2015.06.008>

- Contreras, M., Rincón, M., Vásquez, A., Moreira, R., & Callejas, D. (2021). Aspectos genéticos del virus del dengue. *Revista de Ciencias de la Salud*, 5(2), 79-88. <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/QhaliKay>
- Curren, E. J., Tufa, A. J., Hancock, W. T., Biggerstaff, B. J., Vaifanua-Leo, J. S., Montalbo, C. A., . . . Gould, C. V. (2020). Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction Testing on Filter Paper-Dried Serum for Laboratory-Based Dengue Surveillance-American Samoa, 2018. *Am J Trop Med Hyg*, 102(3), 622-624. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0800>
- Frantchez, V., Fornelli, R., Pérez, G., Arteta, Z., Cabrera, S., Sosa, L., & Medina, J. (2016). Dengue en adultos: diagnóstico, tratamiento y abordaje de situaciones especiales. *Revista Médica del Uruguay*, 32(1), 43-51. <http://www.scielo.edu.uy/pdf/rmu/v32n1/v32n1a06.pdf>
- García, J. A., González, L. C., Reyes, E. Y., Arévalo, T. D., & García, L. B. (2021). Factores de riesgo asociados al Dengue, en el Barrio El Bosque, Machala – Ecuador, 2019. *Polo del Conocimiento*, 6(3), 1883-1891. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i3.2479>
- Go, Y. Y., Rajapakse, R. P., Kularatn, S. A., Le, P.-Y. A., Ku, K. B., Nam, S., . . . Balasuriya, U. B. (2016). A Pan-Dengue Virus Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR Assay Intended for Point-of-Need Diagnosis of Dengue Virus Infection by Use of the POKKIT Nucleic Acid Analyzer. *J Clin Microbiol*, 54(6), 1528-1535. <https://doi.org/10.1128/JCM.00225-16>
- Gutiérrez, L., Quintero, D. C., & Martínez, M. (2012). Actualización en diagnóstico del dengue: evolución de las técnicas y su aplicación real en la clínica. *La clínica y el laboratorio*, 18(9-10), 411-441. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2012/myl129-10b.pdf>
- Hu, S.-f., Li, M., Zhong, L.-l., Lu, S.-m., Liu, Z.-x., Pu, J.-y., . . . Huang, X. (2015). Development of reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection and differentiation of dengue virus serotypes 1-4. *BMC Microbiol*, 15(265). <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0595-1>
- Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”. (2009). *Técnicas de laboratorio para el diagnóstico y la caracterización de los virus del dengue*. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”. [https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Protocolos\\_Dengue\\_IPK\\_2009\\_I.pdf](https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/Protocolos_Dengue_IPK_2009_I.pdf)



- John Wiley & Sons, Inc. (2023). *Cochrane Library*. <https://www.cochranelibrary.com/>
- Jordá, G., Salvatierra, K., & Hanke, S. (2019). Factores clínico-epidemiológicos y serotipos circulantes del virus Dengue en el brote ocurrido en 2016 en Posadas, Misiones. *Universidad Nacional de Misiones*. [https://rid.unam.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12219/2742/Hanke%20SE\\_2019\\_Factores%20cl%C3%ADnico-epidemiol%C3%B3gicos.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://rid.unam.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12219/2742/Hanke%20SE_2019_Factores%20cl%C3%ADnico-epidemiol%C3%B3gicos.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
- Khetarpal, N., & Khanna, I. (2016). Fiebre del dengue: causas, complicaciones y estrategias de vacunación. *Journal of Immunology Research*, 2016, 14. <https://doi.org/10.1155/2016/6803098>
- Lau, Y.-L., Lai, M.-Y., Teoh, B.-T., Abd-Jamil, J., Johari, J., Sam, S.-S., . . . AbuBakar, S. (2015). Colorimetric Detection of Dengue by Single Tube Reverse-Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification. *PLoS One*, 10(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138694>
- Lira, R., Cruz, J. d., Maldonado, A., & Rojas, O. (2018). Sistemas de amplificación isotérmica para la detección molecular de los virus zika, dengue y chikungunya. *Mensaje Bioquímico*, 42, 92-102. <http://bq.facmed.unam.mx/tab/wp-content/uploads/2020/02/9-Lira-Carmona.pdf>
- Lopez, B., Bekaert, M., Bakheit, M., Frischmann, S., Patel, P., Simon-Lorriere, E., . . . Sall, A. A. (2018). Development and validation of four one-step real-time RT-LAMP assays for specific detection of each dengue virus serotype. *PLoS Negl Trop Dis*, 12(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006381>
- López, E., & Gutiérrez, A. (2019). Dengue: actualidades y características epidemiológicas en México. *REVMEDUAS*, 9(3), 159-170. <https://doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v9.n3.006>
- Mahilkar, S., Sharma, C., Jain, J., & Jain, J. (2021). Infecciones concurrentes por dengue: epidemiología e implicaciones clínicas. *Indian Journal of Medical Research*, 154(5), 669-679. [https://doi.org/10.4103/IJMR.IJMR\\_1219\\_18](https://doi.org/10.4103/IJMR.IJMR_1219_18)
- Ministerio de Salud de la Nación. (2015). *Enfermedades infecciosas. Dengue. Guía para el equipo de salud*. Ministerio de Salud Presidencia de la Nación.

<https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000062cnt-guia-dengue-2016.pdf>

Ministerio de Salud Pública. (2020). *Ecuador en alerta para prevenir el contagio del dengue*. Ministerio de Salud Pública: <https://www.salud.gob.ec/estrategia-nacional-de-control-del-dengue/#>

Ministerio de Salud Pública. (2020). *Enfermedades Transmitidas por Vectores. Dengue*. Ministerio de Salud Pública: [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/04/DENGUE-SE\\_14\\_2020\\_GACETA.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/04/DENGUE-SE_14_2020_GACETA.pdf)

Montero, G. (2009). *Biología de Aedes Aegypti*. Sitio Argentino de Producción Animal: [https://www.produccion-animal.com.ar/fauna/Fauna\\_insectos/79-Aedes\\_aegypti.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/fauna/Fauna_insectos/79-Aedes_aegypti.pdf)

Muller, D., Depelsenaire, A., & Young, P. (2017). Diagnóstico clínico y de laboratorio de la infección por el virus del dengue. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(2), 89-95. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw649>

Najioullah, F., Viron, F., & Césaire, R. (2014). Evaluation of four commercial real-time RT-PCR kits for the detection of dengue viruses in clinical samples. *Virology Journal* volume , 11(164). <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-164>

Neeraja, M., Lakshmi, V., Lavanya, V., Priyanka, E. N., Parida, M. M., Dash, P. K., . . . Reddy, G. (2014). Rapid detection and differentiation of dengue virus serotypes by NS1 specific reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay in patients presenting to a tertiary care hospital in Hyderabad, India. *J Virol Methods*, 211, 22-31. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.10.005>

Organización Panamericana de la Salud. (2016). *Dengue: guías para la atención de enfermos en la Región de las Américas*. Organización Panamericana de la Salud. <https://doi.org/978-92-75-31890-4>


Page, M. J., McKenzie, J. E., Boutron, P. M., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., . . . Julie, C. (2021). Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Revista Española de Cardiología*, 74(9), 790-799. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.06.016>

- Palencia, E., Zea, D., & Berríos, A. (2021). Metodología de canales endémicos del dengue en Ecuador 2015-2020: Necesidad para planificar y administrar la salud pública. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 61(1), 105-111. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/04/1178589/art-9-i-2021.pdf>
- Perera, C., & Acevedo, A. (2018). Nuevas tendencias en el diagnóstico de enfermedades virales en los animales. *Revista de Salud Animal*, 40(3), 1-10. <http://scielo.sld.cu/pdf/ras/v40n3/2224-4700-rsa-40-03-e02.pdf>
- Saengsawang, J., Nathalang, O., Kamonsil, M., & Watanaveeradej, V. (2014). Comparison of two commercial real-time PCR assays for detection of dengue virus in patient serum samples. *J Clin Microbiol*, 52(10), 3781-3783. <https://doi.org/10.1128/JCM.01870-14>
- Santiago, G. A., Vergne, E., Quiles, Y., Cosme, J., Vazquez, J., Medina, J. F., . . . Muñoz-Jordán, J. L. (2013). Analytical and clinical performance of the CDC real time RT-PCR assay for detection and typing of dengue virus. *PLoS Negl Trop Dis*, 7(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002311>
- Sasmono, R., Aryati, A., Wardhani, P., Yohan, B., Trimarsanto, H., Fahri, S., . . . Meutiawati. (2014). Performance of Simplexa dengue molecular assay compared to conventional and SYBR green RT-PCR for detection of dengue infection in Indonesia. *PLOS ONE*, 9(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103815>
- Shueb, R. H., & Jusoh, T. N. (2017). Performance Evaluation of Commercial Dengue Diagnostic Tests for Early Detection of Dengue in Clinical Samples. *J Trop Med*. <https://doi.org/10.1155/2017/4687182>
- Simmons, M., Myers, T., Guevara, C., Jungkind, D., Williams, M., & Houg, H.-S. (2016). Development and Validation of a Quantitative, One-Step, Multiplex, Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Detection of Dengue and Chikungunya Viruses. *J Clin Microbiol*, 54(7), 1766-1773. <https://doi.org/10.1128/JCM.00299-16>
- Songjaeng, A., Thiemmec, S., Mairiang, D., Punyadee, N., Kongmanas, K., Hansuealueang, P., . . . Lim, W. (2022). Development of a Singleplex Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Pan-Dengue Virus Detection and Quantification. *Viruses*, 14(6), 1271. <https://doi.org/10.3390/v14061271>

- Soo, K.-M., Khalid, B., Ching, S.-M., & Chee, H.-Y. (2016). Metanálisis de la gravedad del dengue durante la infección por diferentes serotipos del virus del dengue en infecciones primarias y secundarias. *PLoS One*, *11*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154760>
- Stittleburg, V., Rojas, A., Cardozo, F., Muñoz, F. M., Asturias, E. J., Olson, D., . . . Waggoner, J. J. (2020). Dengue Virus and Yellow Fever Virus Detection Using Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR and Comparison with Real-Time RT-PCR. *Am J Trop Med Hyg*, *103*(1), 157-159. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0892>
- Teoh, B.-T., Sam, S.-S., Tan, K.-K., Johari, J., Danlami, M. B., Hooi, P.-S., . . . AbuBakar, S. (2013). Detection of dengue viruses using reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *BMC Infect Dis*, *13*, 387. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-387>
- Theran, J. S., Dulcey, L. A., Saenz, E., Melo, H. J., & Mantilla, W. D. (2022). Historia del dengue en las Américas, perspectivas y evolución histórica epidemiológica, así como su horizonte a futuro . *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *6*(4). [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v6i4.2781](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i4.2781)
- Touriz, M. A., Gurumendi, I. E., Ramírez, A. M., & Tobar, M. R. (2021). Epidemiología de control vectorial y estrategias de prevención del dengue en Guayaquil. *RECIMUNDO*, *5*(2), 158-167. [https://doi.org/10.26820/recimundo/5.\(2\).julio.2021.158-167](https://doi.org/10.26820/recimundo/5.(2).julio.2021.158-167)
- Tsai, J.-J., Liu, W.-L., Lin, P.-C., Huang, B.-Y., Tsai, C.-Y., Chou, P.-H., . . . Chen, C.-H. (2019). An RT-PCR panel for rapid serotyping of dengue virus serotypes 1 to 4 in human serum and mosquito on a field-deployable PCR system. *PLoS One*, *14*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214328>
- Villa, L. P. (2017). Factores de riesgo asociados al dengue. *Revista Enfermería la Vanguardia*, *5*(1), 1-2.
- Waggoner, J. J., Abeynayake, J., Sahoo, M. K., Gresh, L., Tellez, Y., Gonzalez, K., . . . Pinsky, B. A. (2013). Comparison of the FDA-approved CDC DENV-1-4 real-time reverse transcription-PCR with a laboratory-developed assay for dengue virus detection and serotyping. *J Clin Microbiol*, *51*(10), 3418-3420. <https://doi.org/10.1128/JCM.01359-13>

- Waggoner, J. J., Abeynayake, J., Sahoo, M. K., Gresh, L., Tellez, Y., Gonzalez, K., . . . Pinsky, B. A. (2013). Development of an internally controlled real-time reverse transcriptase PCR assay for pan-dengue virus detection and comparison of four molecular dengue virus detection assays. *J Clin Microbiol*, *51*(7), 2172-2181. <https://doi.org/10.1128/JCM.00548-13>
- Waggoner, J. J., Abeynayake, J., Sahoo, M. K., Gresh, L., Tellez, Y., Gonzalez, K., . . . Pinsky, B. A. (2013). Single-reaction, multiplex, real-time rt-PCR for the detection, quantitation, and serotyping of dengue viruses. *PLoS Negl Trop Dis*, *7*(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002116>
- Waggoner, J. J., Ballesteros, G., Gresh, L., Mohamed-Hadley, A., Tellez, Y., Sahoo, M. K., . . . Pinsky, B. A. (2016). Clinical evaluation of a single-reaction real-time RT-PCR for pan-dengue and chikungunya virus detection. *J Clin Virol*, *78*, 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.01.007>
- Wong, J., & et, a. (2022). Dengue: un problema creciente con nuevas intervenciones. *Pediatría*, *149*(6), 149. <https://doi.org/10.1542/peds.2021-055522>
- Zhou, Y., Wan, Z., Yang, S., Li, Y., Li, M., Wang, B., . . . Zhang, C. (2019). A Mismatch-Tolerant Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method and Its Application on Simultaneous Detection of All Four Serotype of Dengue Viruses. *Front Microbiol*, *10*, 1056. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01056>

## 11. Anexos

 <b>Universidad Nacional de Loja</b> <b>Facultad de la Salud Humana</b> <b>Carrera de Laboratorio</b> <b>Clínico</b>	<b>Oficio de director de Proyecto de Integración Curricular</b>		
	<b>Anexo N°1</b>		
	Versión 1	<b>Fecha:</b>	19 de julio de 2023

Memorando n°. UNL-FSH-DCLC-2023-0387-M  
Loja, 19 de julio de 2023

**PARA:** Licenciada:  
María del Cisne Loján González  
**DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA.**

**ASUNTO:** Designación de Director del Trabajo de Investigación Curricular

Por el presente y dando cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 228 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja, aprobado el 27 de enero de 2021, una vez que ha cumplido con todos los requisitos y considerando que el proyecto de tesis fue aprobado; me permito hacerle conocer que esta Dirección le ha designado Directora del trabajo de Investigación Curricular, titulado: **“SEROTIPOS VIRALES DE DENGUE: ESTUDIOS DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES Y SU EFICACIA DIAGNÓSTICA. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA”**, de autoría del Sr. **ALEX GABRIEL ORDÓNEZ CARRILLO**, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Facultad de la Salud Humana.

Con los sentimientos de consideración y estima, quedo de usted agradecida.

Atentamente,




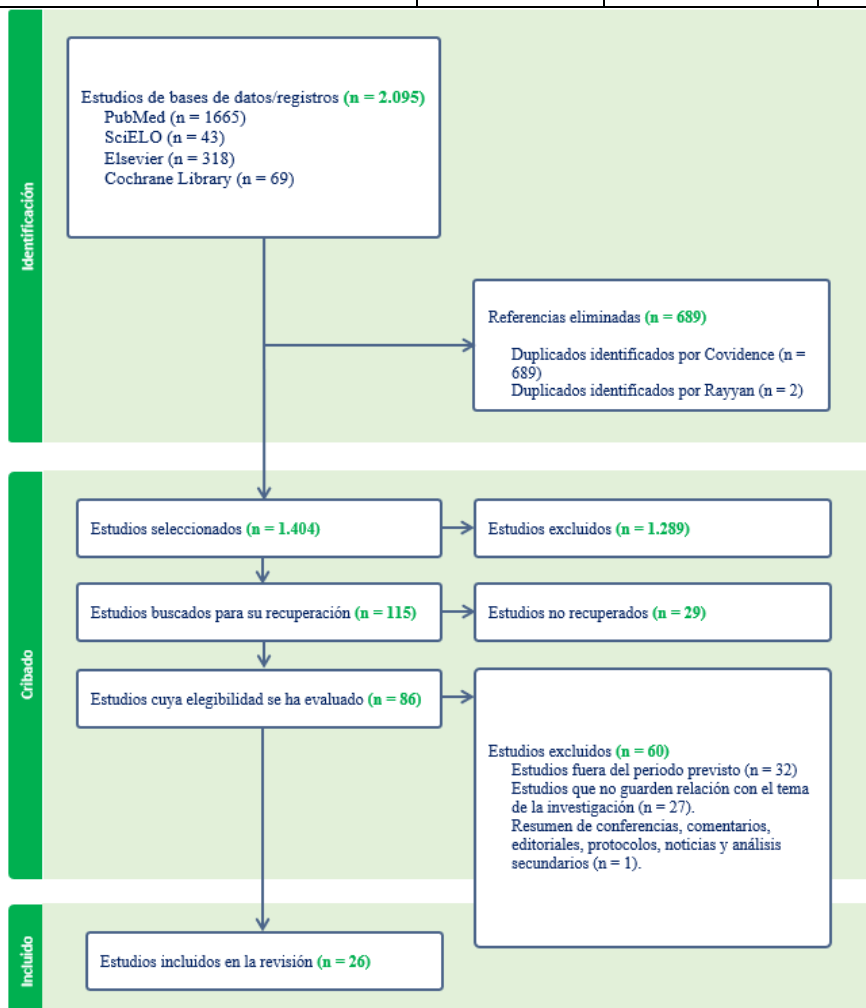
SANDEA ELIZABETH  
FREIRE CUESTA

Dr. Sc. Sandra Freire Cuesta

**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA- UNL.**

Referencia: Correo electrónico  
Anexo Archivo Secretaría de la Carrera  
Elaborado por: Sandra Freire, Directora de Carrera.

 <p><b>Universidad Nacional de Loja</b>  <b>Facultad de la Salud Humana</b>  <b>Carrera de Laboratorio Clínico</b></p>	<b>Flujograma sobre la búsqueda y selección de los estudios, según el modelo PRISMA</b>		
	<b>Anexo N°2</b>		
	Versión 1	<b>Fecha:</b>	25 de mayo de 2023



<b>Elaborado por:</b>	Alex Gabriel Ordoñez Carrillo	
<b>Aprobado por:</b>	Lic. María del Cisne Loján González M.Sc	



N°	Título	Autores	Población	Tipo de estudio	Objetivos	Técnica empleada	S	E	D1	D2	D3	D4
1	Performance of Simplexa dengue molecular assay compared to conventional and SYBR green RT-PCR for detection of dengue infection in Indonesia.	Sasmono R. et al., 2014	Indonesia, 184 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento del ensayo de dengue simplexa mediante una comparación con la RT-PCR convencional y la RT-PCR en tiempo real SYBR Green en sueros aislados de ocho ciudades de Indonesia, un país endémico de dengue.	RT-PCR. RT-PCR real time SYBR GREEN. Dengue Simplexa (RT-PCR en tiempo real).	95% 97,5% 100%	100% 100% 100%	76	14	11	32
2	Rapid detection and differentiation of dengue virus serotypes by NS1 specific reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay in patients presenting to a tertiary care hospital in Hyderabad, India.	Neeraja M. et al., 2015	Hyderabad, 300 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo RT-LAMP para la detección y el serotipado de la infección por DENV dirigida a las regiones específicas del serotipo del gen NS1 utilizando un fluorómetro en tiempo real en pacientes que se presentan en un hospital de atención terciaria en Hyderabad, India.	NS1 RT-PCR CDC real time PCR + NS1Ag RT-LAMP + NS1	94,6% 100% 100%	100% 100% 100%	4	60	80	4
3	An RT-PCR panel for rapid serotyping of dengue virus serotypes 1 to 4 in human serum and mosquito on a field-deployable PCR system.	Tsai J. et al., 2019	Kaohsiung, Taiwán.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento de los cuatro reactivos de serotipado DENV en los dispositivos POCKIT y POCKIT Micro Plus PCR para la detección de los respectivos serotipos DENV objetivo en suero humano y muestras de mosquitos.	RT-iiPCR/POCKIT	D1.100% D2.95,2% D3.100% D4.100%	100% 100% 95% 100%	-	-	-	-
4	Development of reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection and	Hu S. et al., 2015	China, 190 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo específico, sensible y robusto de amplificación isotérmica mediada por bucle de	RT-LAMP RT-PCR PCR real time (qPCR)	98,9% 84,7% 90,5%	100% 100% 100%	-	-	-	-



Nº	Título	Autores	Población	Tipo de estudio	Objetivos	Técnica empleada	S	E	D1	D2	D3	D4
	differentiation of dengue virus serotypes 1-4.				transcriptasa inversa (RT-LAMP) para la detección y diferenciación de serotipos DENV1-4.							
5	Development and Evaluation of a SYBR Green-Based Real-Time Multiplex RT-PCR Assay for Simultaneous Detection and Serotyping of Dengue and Chikungunya Viruses.	Chen H. et al., 2015	Singapur, 106 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y evaluar un ensayo de RT-PCR multiplex en tiempo real basado en SYBR Green I para detectar, diferenciar y cuantificar DENV y CHIKV y simultáneamente para serotipo DENV basado en el análisis Tm del amplicón de PCR.	RT-PCR real time multiplex SYBR GREEN	100%	100%	29	30	30	17
6	Development of an internally controlled real-time reverse transcriptase PCR assay for pan-dengue virus detection and comparison of four molecular dengue virus detection assays.	Waggoner J. et al., 2013	Nicaragua 161 muestras y de Sri Lanka 40 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Informar sobre el desarrollo de una rRT-PCR controlada internamente específica de la especie que utiliza sondas de hidrólisis para la detección de DENV (denominado ensayo pan-DENV).	qRT-PCR pan-DENV qRT-PCR multiplex hemi-nested PCR qRT-PCR (ensayo altona)	98,5% 100% 78,8% 72,3%	85,7% 87,8% 93,9% 100%	-	-	-	-
7	Development and Validation of a Quantitative, One-Step, Multiplex, Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Detection of Dengue and Chikungunya Viruses.	Simmons M. et al., 2016	Granada, 89 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y validar una PCR multiplex de transcriptasa inversa de un solo paso (RT-PCR) para detectar, cuantificar y diferenciar simultáneamente entre cuatro serotipos de DENV (pan-DENV) y el virus chikungunya.	RT-PCR multiplex real time onestep (DENV/CHIK TaqMan)	95%	100%	-	-	-	-
8	Comparison of multiplex RT-PCR and real-time HybProbe assay for serotyping of dengue virus using reference strains and clinical samples from India.	Chakravarti A. et al., 2016	India, 79 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Comparar la eficacia de dos métodos moleculares de detección y tipificación, a saber, la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa multiplex (RT-PCR) y el ensayo Hybprobe en tiempo real, utilizando un panel de diluciones conocidas de cuatro	Hybprobe real time (RT-PCR dúplex real time) RT-PCR multiplex	97,3% 18,1%	100% 100%	-	-	-	-

N°	Título	Autores	Población	Tipo de estudio	Objetivos	Técnica empleada	S	E	D1	D2	D3	D4
9	Clinical evaluation of a single-reaction real-time RT-PCR for pan-dengue and chikungunya virus detection.	Waggoner J. et al., 2016	Nicaragua, 182 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	cepas de virus del dengue de referencia y un panel de sueros recogidos de pacientes con sospecha clínica de dengue. Desarrollar y evaluar una RT-PCR multiplex en tiempo real de reacción única (rRT-PCR) para la detección y diferenciación de DENV y CHIKV (la rRT-PCR pan-DENV-HIKV).	qRT-PCR pan-DENV	98,7%	100%	22	12	35	-
10	Single-reaction, multiplex, real-time rt-PCR for the detection, quantitation, and serotyping of dengue viruses.	Waggoner J. et al., 2013	Sri Lanka, 74 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar una PCR multiplex, en tiempo real, con transcriptasa inversa (rRT-PCR) para la detección, cuantificación y serotipado de virus del dengue en una sola reacción.	qRT-PCR multiplex onestep RT-PCR hemi-nested	95,6% 74,6%	100% 100%	-	-	-	-
11	Colorimetric Detection of Dengue by Single Tube Reverse-Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification.	Lau Y. et al., 2015	Kuala Lumpur, 189 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un método RT-LAMP multiplex para detectar infecciones por el virus del dengue utilizando un solo tubo.	RT-LAMP ELISA qRT-PCR	100% 100% 85,2%	100% 52% 100%	-	-	-	-
12	Development and validation of four one-step real-time RT-LAMP assays for specific detection of each dengue virus serotype.	Lopez B. et al., 2018	Tanzania, 31 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar 4 ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP) de un solo paso, en tiempo real, para la detección de serotipos del virus del dengue (DENV) considerando 2.056 secuencias DENV del genoma completo.	RT-LAMP	95,8%	100%	-	-	-	-
13	Development of a Singleplex Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Pan-Dengue Virus	Songjaeng A. et al., 2022	Khon Kaen y Songkhla, 161 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar una RT-PCR en tiempo real de un solo tubo específica para DENV 3'-UTR para la detección y cuantificación de pan-DENV	RT-PCR en tiempo real singleplex	96,9%	100%	39	39	39	44

N°	Título	Autores	Población	Tipo de estudio	Objetivos	Técnica empleada	S	E	D1	D2	D3	D4
	Detection and Quantification.				sin reactividad cruzada a otros flavivirus.							
14	A Mismatch-Tolerant Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method and Its Application on Simultaneous Detection of All Four Serotype of Dengue Viruses.	Zhou Y. et al., 2019	China, 153 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Informar un nuevo ensayo LAMP tolerante a desajustes y su aplicación en la detección de virus del dengue (DENV).	RT-LAMP tolerante a desajustes NS1 de detección de antígenos RT-PCR específica RT-LAMP convencional	94,8% 92,2% 78,4% 86,9%	100% 100% 100% 100%	58	5	46	11
15	A Luminex-based single DNA fragment amplification assay as a practical tool for detecting and serotyping dengue virus.	Cabral M. et al., 2016	Brasil, 60 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar una metodología basada en Luminex para la identificación y diferenciación de serotipos de DENV, ofreciendo un uso potencial en el diagnóstico precoz de la infección por DENV.	RT-PCR/Luminex	86,7%	100%	-	-	-	-
16	Comparison of the FDA-approved CDC DENV-1-4 real-time reverse transcription-PCR with a laboratory-developed assay for dengue virus detection and serotyping.	Waggoner J. et al., 2013	Nicaragua, 199 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Comparar una rRT-PCR multiplex DENV desarrollada en laboratorio con el ensayo DENV-1-4 de los CDC utilizando 199 muestras clínicas recolectadas de casos sospechosos de dengue entre el día 2 y 9 de la enfermedad.	RT-PCR multiplex Ensayo DENV-1-4 de los CDC (RT-PCR en tiempo real)	97,4% 87,1%	90,9% 97,7%	-	-	-	-
17	A Pan-Dengue Virus Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR Assay Intended for Point-of-Need Diagnosis of Dengue Virus Infection by Use of the POCKIT Nucleic Acid Analyzer.	Go Y. et al., 2016	Sri Lanka, 220 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo diagnóstico novedoso, económico y fácil de usar basado en un método de PCR isotérmica aislada con transcripción inversa (RT-iiPCR) para la detección de los cuatro serotipos de DENV en muestras clínicas.	RT-iiPCR pan-DENV RT-qPCR	90,5% 98,6%	98,3% 95,8%	-	-	-	-

N°	Título	Autores	Población	Tipo de estudio	Objetivos	Técnica empleada	S	E	D1	D2	D3	D4
18	Comparison of two commercial real-time PCR assays for detection of dengue virus in patient serum samples.	Saengsawang J. et al., 2014	Tailandia.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar y comparar el rendimiento de dos ensayos de PCR en tiempo real utilizando la transcripción inversa anidada (RT)-PCR como método de referencia.	Kit abTES DEN 5 (qPCR) innuDETECT Dengue TwoStep (qPCR)	97,4% 44,4%	100% 100%	-	-	-	-
19	Detection of dengue viruses using reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification.	Teoh B. et al., 2013	305 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar un ensayo de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa de un solo tubo (RT-LAMP) con un conjunto de nueve cebadores para la detección de los cuatro serotipos de DENV y sus diferentes genotipos. Evaluar la sensibilidad y especificidad del RT-LAMP. Comparar nuevas PCR isotérmicas aisladas con transcripción inversa (los conjuntos de reactivos POCKIT DENV y YFV) con rRT-PCR desarrolladas en laboratorio para ambos virus utilizando muestras clínicas y cepas virales de diferentes regiones endémicas.	RT-LAMP RT-LAMP + ELISA IGG IGM qRT-PCR	43,3% 97,7% 46,8%	- 99,6% -	-	-	-	-
20	Dengue Virus and Yellow Fever Virus Detection Using Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR and Comparison with Real-Time RT-PCR.	Stittleburg V. et al., 2020	Guatemala, Paraguay y Sri Lanka, 133 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Informar el rendimiento del ensayo RT-PCR en tiempo real DENV-1-4 de los CDC, incluida su capacidad para detectar DENV de múltiples linajes, y la sensibilidad clínica y la especificidad para el diagnóstico en casos humanos sospechosos de dengue.	POCKIT (PCR isotérmicas aisladas con transcripción inversa)	87,2%	98,2%	24	33	18	3
21	Analytical and clinical performance of the CDC real time RT-PCR assay for detection and typing of dengue virus.	Santiago G. et al., 2013	Puerto Rico y Costa Rica, 86 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas		RT-qPCR CDC	97,92%	100%	16	11	5	15

Nº	Título	Autores	Población	Tipo de estudio	Objetivos	Técnica empleada	S	E	D1	D2	D3	D4
22	Recombinase Polymerase Amplification Assay for Rapid Diagnostics of Dengue Infection.	Abd W. et al., 2015	Bandafasi y Tailandia, 90 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Desarrollar y evaluar ensayos de RPA con transcripción inversa en el punto de necesidad (RT-RPA) para la detección de DENV1-4 sin diferenciación entre los serotipos con muestras de Senegal y Tailandia.	RT-RPA	72%	100%	-	-	-	-
						RT-qPCR	94,4%	100%				
23	Clinical evaluation of BioFire® multiplex-PCR panel for acute undifferentiated febrile illnesses in travellers: a prospective multicentre study.	Camprubí D. et al., 2023	73 muestras de viajeros.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar un panel prototipo BioFire®FilmArray® de pruebas de amplificación de ácidos nucleicos multiplex (NAAT) dirigidas a diferentes patógenos relevantes en viajeros que regresan con fiebre.	BioFire® multiplex-PCR panel	92,9%		-	-	-	-
						DENV NS1+NAAT	80,8%	99,5%				
24	Evaluation of four commercial real-time RT-PCR kits for the detection of dengue viruses in clinical samples.	Najioullah F. et al., 2014	162 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento de 4 kits comerciales de RT-PCR en tiempo real DENV desarrollados recientemente.	Geno-Sen RealStar Simplexa Liferiver	85,2% 83,3% 93,2%	100% 98,5% 100%	46	37	33	46
25	Performance Evaluation of Commercial Dengue Diagnostic Tests for Early Detection of Dengue in Clinical Samples.	Mat J. y Shueb R., 2017	Malasia, 86 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el rendimiento diagnóstico de la PDR no estructural 1 (NS1) y los kits de diagnóstico de RT-PCR en tiempo real en 86 muestras de suero de pacientes.	RealStar Dengue GenoAmp Trioplex GenoAmp Dengue	90,3% 90,3% 83,9%	100% 100% 100%	14	8	2	1
26	Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction Testing on Filter Paper-Dried Serum for Laboratory-Based Dengue Surveillance-American Samoa, 2018.	Curren E. et al., 2020	Samoa Americana, 100 muestras.	Estudio de precisión de pruebas diagnósticas	Evaluar el uso de sueros secos con papel de filtro para la detección del ARN del virus del dengue (DENV) durante un brote en Samoa Americana.	RT-PCR en el suero seco con papel de filtro	78%	100%	-	-	-	-

*Nota.* Sensibilidad (S); Especificidad (E); RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa); qPCR (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real); RPA (Reacción mediada por recombinasa y polimerasa); RT-LAMP (Amplificación isotérmica mediada por bucle en transcriptasa inversa); CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades); iiPCR (Reacción en cadena de la polimerasa isotérmica aislada).

<b>Elaborado por:</b>	Alex Gabriel Ordoñez Carrillo	
<b>Aprobado por:</b>	Lic. María del Cisne Loján González M.Sc	



**Universidad Nacional de Loja**  
**Facultad de la Salud Humana**  
**Carrera de Laboratorio Clínico**

**Resumen de la evaluación del riesgo de sesgo de los artículos incluidos en esta revisión mediante la herramienta JBI**

**Anexo N°4**

Versión 1

**Fecha:**

25 de mayo de 2023


N.º	Estudio	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10	% SÍ	SESGO
1	Sasmono R. et al., 2014	O	X	O	O	O	O	O	O	O	O	90%	BAJO
2	Neeraja M. et al., 2015	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
3	Tsai J. et al., 2019	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
4	Hu S. et al., 2015	O	O	O	O	N/A	O	O	O	O	O	100%	BAJO
5	Chen H. et al., 2015	X	X	O	O	N/A	O	O	O	O	O	78%	BAJO
6	Waggoner J et al., 2013	X	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	78%	BAJO
7	Simmons M. et al., 2016	O	O	O	O	N/A	O	O	O	O	O	100%	BAJO
8	Chakravarti A. et al. 2016	O	O	O	O	N/A	O	O	O	O	O	100%	BAJO
9	Waggoner J. et al., 2016	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
10	Waggoner J. et al., 2013	X	O	O	O	O	X	O	O	O	O	80%	BAJO
11	Lau Y. et al., 2015	O	O	O	O	O	X	O	O	O	O	90%	BAJO
12	Lopez B. et al., 2018	X	X	O	O	N/A	X	O	O	O	O	67%	MODERADO
13	Songjaeng A. et al., 2022	X	O	O	O	O	O	O	O	O	O	90%	BAJO
14	Zhou Y. et al., 2019	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
15	Cabral M. et al., 2016	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
16	Waggoner J. et al., 2013	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
17	Go Y. et al. 2016	O	O	O	O	O	X	O	O	O	O	90%	BAJO

18	Saengsawang J. et al., 2014	O	O	O	O	N/A	X	O	O	O	O	89%	BAJO
19	Teoh B. et al., 2013	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	100%	BAJO
20	Stittleburg V. et al., 2020	?	O	O	O	X	X	O	O	O	O	70%	BAJO
21	Santiago G. et al., 2013	O	O	O	O	X	O	O	O	O	O	90%	BAJO
22	Abd W. et al., 2015	X	O	O	O	O	X	O	O	O	O	80%	BAJO
23	Camprubí D. et al., 2023	O	O	O	O	X	X	O	O	O	O	80%	BAJO
24	Najjioullah et al., 2014	X	X	O	O	N/A	X	O	O	O	O	60%	MODERADO
25	Mat J. y Shueb R., 2017.	O	X	O	O	X	X	O	O	O	O	70%	BAJO
26	Curren E. et al., 2020	X	X	O	O	N/A	X	O	O	O	X	56%	MODERADO

*Nota.* Ítems de la evaluación de la calidad para estudios de precisión de pruebas diagnósticas de JBI (Q<sub>n</sub>); Sí (O); No (X); Poco claro (?); No aplica (N/A)

<b>Elaborado por:</b>	Alex Gabriel Ordoñez Carrillo	
<b>Aprobado por:</b>	Lic. María del Cisne Loján González M.Sc	



 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico</p>	<b>Evaluación de la calidad de la revisión sistemática</b>		
	<b>Anexo N°5</b>		
	Versión 1	<b>Fecha:</b>	10 de julio de 2023

### Resultados de la declaración PRISMA

			Si	Parcial	No
<b>Título</b>	1	Título	X		
<b>Abstract</b>	2	Resumen estructurado		X	
<b>Introducción</b>	3	Fundamento	X		
<b>Métodos</b>	4	Objetivos	X		
	5	Protocolo y registro		X	
	6	Criterios de admisibilidad	X		
	7	Fuentes de información	X		
	8	Estrategia de búsqueda	X		
	9	Selección de estudios	X		
	10	Proceso de recopilación de datos	X		
	11	Lista de datos	X		
	12	Riesgo de sesgo entre los estudios	X		
	13	Medidas del efecto	X		
<b>Resultados</b>	14	Síntesis de resultados		X	
	15	Riesgo de sesgo en los estudios	X		
	16	Análisis adicionales		X	
	17	Selección de estudios	X		
<b>Discusión</b>	18	Características de los estudios	X		
	19	Riesgo de sesgo dentro de los estudios	X		
	20	Resultados de estudios individuales	X		
	21	Síntesis de resultados	X		
	22	Riesgo de sesgo entre los estudios			X
	23	Análisis adicionales	X		
	24	Resumen de las pruebas	X		
<b>Financiación</b>	25	Limitaciones	X		
	26	Conclusiones	X		
	27	Financiación			X

<b>Elaborado por:</b>	Alex Gabriel Ordoñez Carrillo	
<b>Aprobado por:</b>	Lic. María del Cisne Loján González M.Sc	



**Universidad Nacional de Loja**  
**Facultad de la Salud Humana**  
**Carrera de Laboratorio**  
**Clínico**

**Carta de pertinencia y coherencia**

**Anexo N°6**

Versión 1

**Fecha:**

10 de julio de  
2023

Memorando n°. UNL-FSH-DCLC-2023-0378-M  
Loja, 10 de julio de 2023

**PARA:** Señor:  
Alex Gabriel Ordóñez Carrillo  
ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA  
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA.

**ASUNTO:** Envío de pertinencia

Por medio del presente, me permito correr traslado el Oficio emitido por la Lcda. María del Cisne Loján González, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico, con respeto a la estructura, coherencia y pertinencia del tema de investigación: "SEROTIPOS VIRALES DE DENGUE: ESTUDIOS DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES Y SU EFICACIA DIAGNÓSTICA. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA", de su autoría, con la finalidad de que se siga el proceso, quedando aprobado el mismo por parte de esta dependencia; y, se continúe con el proceso correspondiente de conformidad a los Art. 225, 226, 227, 228, 229 y 230 del Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja.

Particular que me permito comunicar para fines pertinentes


Atentamente,



**SANDRA FREIRE CUESTA**

**Dra. Esp. Sandra Freire Cuesta**  
**DIRECTORA DE LA CARRERA DE LABORATORIO**  
**CLÍNICO DE LA FACULTAD DE LA SALUD HUMANA- UNL.**

Referencia: Correo electrónico  
Anexo Archivo Secretaría de la Carrera  
Elaborado por: María del C. Salazar L. ANALISTA DE APOYO A LA GESTIÓN ACADÉMICA-FSH

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana Carrera de Laboratorio Clínico</p>	<b>Certificado de la traducción del inglés avalado por un profesional</b>		
	<b>Anexo N°7</b>		
	Versión 1	<b>Fecha:</b>	20 de octubre de 2023

Lic. Yanina Guamán

ENGLISH TEACHER

CERTIFICA:

Que el documento aquí compuesto es fiel traducción del idioma español al idioma inglés del resumen del Trabajo de Integración Curricular “Serotipos virales de dengue: estudios de las técnicas moleculares y su eficacia diagnóstica. Una revisión sistemática”, autoría de Alex Gabriel Ordoñez Carrillo, con número de cédula 1105710691, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja.

Lo certifico en honor a la verdad y autorizo al interesado hacer uso del presente en lo que a sus intereses convenga.

Loja, 19 de octubre de 2023



Lic. Yanina Guamán.