

DOI: <https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.498>

PCR como técnica molecular más utilizada en el diagnóstico del virus del dengue. Revisión sistemática

PCR as the most widely used molecular technique in the diagnosis of dengue virus. Systematic review

Candelario Rodríguez Pérez

DAMJM. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.
potencia_rguez@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-8233-0577>
Villahermosa - México

Santa Dolores Carreño Ruiz

FMEA. Universidad Autónoma de Chiapas, México
lasanta456@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5782-193X>
Chiapas - México

Mireya Martínez Rodríguez

DAMJM. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México
mrmireya25@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4894-0969>
Villahermosa - México

Rosa Felicita Ortíz Ojeda

DAMJM. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México
rosaf_oo@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9137-7118>
Villahermosa - México

Artículo recibido: día 13 de marzo de 2023. Aceptado para publicación: 16 de marzo de 2023.
Conflictos de Interés: Ninguno que declarar.

Resumen

Los métodos moleculares, pruebas inmunológicas, bioquímicas y de sensores permiten de forma rápida la detección de agentes microscópicos, estos son útiles como herramientas que ayudan en el diagnóstico de enfermedades en la identificación del virus del dengue transmitido por el vector *Aedes aegypti*. Con el uso de la PCR como técnica molecular se puede amplificar el material genético ya sea ADN o ARN. El presente trabajo de investigación tiene como propósito conocer e identificar la principal técnica molecular aplicada como método para el diagnóstico del virus dengue y así tener un panorama más amplio ante la detección oportuna de este agente vírico. De forma sistemática se hizo una revisión exhaustiva con el método PRISMA utilizando diferentes motores de búsqueda como Science Direct, Google Académico y PubMed y en una base Excel se concentró la información. Se encontró 2,084 artículos relacionados al tema, el 53.8% de ellos se situó en la base Google Académico, Colombia fue el país con mayor número de estudios realizado en la detección del virus dengue con técnica molecular, como la RT-PCR. Para la detección del virus dengue se siguen utilizando las pruebas serológicas, sin embargo, la técnica molecular RT-PCR se utilizó en un 71.4% de los estudios.

Palabras clave: virus, dengue, técnicas moleculares, diagnóstico

Abstract

Molecular methods, immunological, biochemical and sensor tests allow the rapid detection of microscopic agents, these are useful as tools that help in the diagnosis of diseases in the identification of the dengue virus transmitted by the *Aedes aegypti* vector. With the use of PCR as a molecular technique, genetic material can be amplified, whether it is DNA or RNA. Aim. The purpose of this research work is to know and identify the main molecular technique applied as a method for the diagnosis of the dengue virus and thus have a broader panorama before the timely detection of this viral agent. An exhaustive review was carried out systematically with the PRISMA method using different search engines such as Science Direct, Google Scholar and PubMed and the information was concentrated in an Excel database. Results. 2,084 articles related to the subject were found, 53.8% of them were located in the Google Scholar database, Colombia was the country with the largest number of studies carried out on the detection of the dengue virus with a molecular technique, such as RT-PCR. For the detection of the dengue virus, serological tests continue to be used, however the RT-PCR molecular technique was used in 71.4% of the studies.

Keywords: virus, dengue, molecular techniques, diagnosis

Todo el contenido de LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades, publicados en este sitio está disponibles bajo Licencia Creative Commons . 

Como citar: Rodríguez Pérez, C., Rodríguez Pérez, C., Carreño Ruiz, S. D., Martínez Rodríguez, M., Martínez Rodríguez, M., & Ortíz Ojeda, R. F. (2023). PCR como técnica molecular más utilizada en el diagnóstico del virus del dengue. Revisión sistemática. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades* 4(1), 3444–3455. <https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.498>

PCR COMO TÉCNICA MOLECULAR MÁS UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DEL DENGUE. REVISIÓN SISTEMÁTICA

El dengue, es una infección viral que se transmite por la picadura del mosquito del género *Aedes* principalmente por la especie *aegypti* su incidencia representa un problema de salud pública a nivel mundial.¹ representando casi el 50% de la población en riesgo. El virus del dengue (DENV) es el arbovirus más importante en términos de morbilidad, mortalidad y afectación económica.^{2,3,4} Incluye 5 serotipos denominados DENV1 a DENV5. Este último ha sido descrito recientemente, produce un espectro de enfermedad que cursa desde una infección asintomática, un cuadro febril sin complicaciones o una enfermedad grave con incremento en la permeabilidad vascular, llevando a complicaciones hemorrágicas, e incluso la muerte del individuo.⁵

El dengue es generado por un virus de ARN del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. El genoma viral codifica para una poliproteína que es posteriormente procesada dando lugar a 3 proteínas estructurales (prM/M, E y C) y 7 no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5).⁶

La secuenciación del DENV brindó información de su origen, ubicándolo en el continente de África como sitio originario. En relación a los mecanismos de evolución, tal cual sucede con otros virus de ARN; DENV-1 presenta altas tasas de mutación debido a una ARN polimerasa intrínsecamente susceptible de errores. Este virus exhibe abundante variación genética, sin que esto dé lugar a la formación de cuasiespecies.⁷

De acuerdo a la OMS (Organización Mundial de la Salud) en los últimos años han aumentado los casos de dengue. En el periodo del 2000 al 2004 el promedio de casos pasó de 479.8489 a 925.896 casos, casi el doble de la cifra de promedio anual del periodo 1990-1999.^{2,8} En los primeros cinco meses del año 2020 la Organización Panamericana de Salud (OPS) notificó más de 1,6 millones de casos de dengue en las Américas. La mayor parte de casos se reportó en Brasil, con 1.040.481 representando el 65%, Paraguay, con 218.798, Bolivia, con 82.460, Argentina con 79.775 y Colombia con 54.192 casos. Otros países como Honduras, México y Nicaragua también reportaron altas tasas de incidencia, y con menores números de casos se reportaron países de Centroamérica y el Caribe.⁹

Los casos de infecciones tropicales que incluyen a la malaria, el dengue, la leptospirosis y las rickettsiosis, se presentan con fiebre, signos y síntomas inespecíficos, para los cuales es necesario realizar pruebas diagnósticas que van desde las serológicas a moleculares para su atención.¹⁰

En la actualidad se han desarrollado métodos moleculares rápidos que permiten la detección de agentes microscópicos en un tiempo corto (24-72 h) así como pruebas inmunológicas, bioquímicas y de biosensores. Útiles como herramientas de detección que reducen la mano de obra y el tiempo de respuestas.¹¹ El diagnóstico molecular engloba un conjunto de técnicas de laboratorio que tienen como objetivo principal extraer, identificar y amplificar fragmentos de material genético, ADN y ARN.

El desarrollo de técnicas moleculares como la secuenciación masiva, ha traído consigo el desarrollo de estrategias para conocer los genomas presentes en los distintos ambientes, estas técnicas permiten reconocer la presencia de los virus conocidos y desconocidos.¹² Es por ello que el objetivo principal del presente trabajo es conocer e identificar la principal técnica molecular aplicada como método para el diagnóstico del virus dengue y así tener un panorama más amplio ante la detección oportuna de este agente vírico.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica tiene como finalidad ampliar en masa fragmentos de determinado ADN, a través de un termociclador, en una serie de ciclos repetitivos, siguiendo un patrón de temperatura para la desnaturalización del ADN (94°C), un rango de temperaturas de 45-55°C para que se alineen los primer (cebadores) agregándole los dNTP's complementarios y un periodo de extensión (temperatura de 72° C), que se logra mediante una enzima DNA polimerasa termoestable, para crear una acumulación de fragmentos específicos¹³ al final del ciclo se habrán formado el amplicon con el tamaño dictado por el número total de pares de bases (pb) que deberá fijar el investigador.¹¹ En los próximos números de copias el producto que se recién sintetizó sirve como molde para los siguientes ciclos, de esta forma se crea la reacción en cadena a través de la polimerasa, permitiendo ampliar el número de fragmentos del ADN. Esta técnica ofrece sensibilidad y especificidad debido a que en cantidades pequeñas de una muestra y de material genético detecta la presencia de microorganismos y permite ampliar únicamente el microorganismo diana con procesamiento rápido.¹³

Reverso transcripción-PCR

El procedimiento convencional de la PCR ha tenido modificaciones, que ampliaron su capacidad para el diagnóstico. Uno de ellos es el desarrollo de la Transcripción reversa-PCR, conocida como RT-PCR (Reverse Transcription-PCR, por sus siglas en inglés). Se desarrolló para ARN dianas, donde a partir del ARN se obtiene un ADN complementario (ADNc); para la conversión es necesario la enzima transcriptasa reversa o reverso transcriptasa (una polimerasa de ADN-ARN dependiente). En el primer ciclo de la reacción se pueden utilizar como cebador los hexámeros de oligonucleótidos formados por seis nucleótidos, los cuales se unen al azar en cualquier región del ARN molde, o un oligonucleótido (en general un oligo dT) que permite la captura y la realización del ADNc a partir del ARNm o ARN con colas poliA. Al obtener el ADNc se amplifica con una ADN polimerasa. Las reverso transcriptasas (RTase), usadas comúnmente son la del virus MMLV de la leucemia murina (Moloney Murine Leukemia Virus, por sus siglas en inglés) y la reverso transcriptasa AMV del virus de la mieloblastosis aviar. Sin embargo, se han ido desarrollando más RTases con el uso de la tecnología recombinante.¹⁴

Nucleic Acid Test (NAT)

La técnica NAT (Nucleic Acid Amplification Technology, por sus siglas en inglés) fue postulada desde 1999 a nivel mundial. Permite detectar la presencia de material genético del virus en la sangre, antes que los ensayos serológicos sean positivos, ya que actúan como marcador de replicación viral y da la infectividad del mismo por su capacidad de ser considerado un virión; por otro lado, indican la respuesta del virus ante una terapia con drogas y pueden predecir la respuesta a tratamiento. La prueba de NAT parte de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).¹⁵

RT- PCR / ELISA

La serología es la técnica que más se emplea en el diagnóstico de rutina. No es una técnica molecular, sin embargo, se recomiendan como complemento a las pruebas moleculares, así como para monitoreo de la enfermedad en lugar de único marcador diagnóstico.¹⁶

Los ELISAs (por sus siglas en inglés de Enzyme linked immunosorbent assay) para anticuerpos IgM e IgG son los estándares para el análisis serológico de las infecciones del virus dengue, ya que son simples y permiten testar una gran cantidad de muestras, 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. Esta técnica permite obtener no solo un resultado cualitativo, sino semi-cuantitativo.¹⁷ Su sensibilidad es del 78% para detectar

la IgM y del 59% para IgG variando en dependencia del tipo de infección, en la detección combinada simultánea de ambas inmunoglobulinas la sensibilidad se ve aumentada al 100% en las infecciones primarias y a 98% en las infecciones secundarias.^{18,19}

MÉTODO

Se realizó una búsqueda de artículos de manera sistemática y exhaustiva utilizando el método PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) con el fin de precisar las técnicas moleculares que están determinadas en las literaturas y que se utilizan para diagnosticar el virus dengue, en un periodo comprendido del año 2010 al 2022. La identificación de literatura relevante se llevó a cabo en motores de búsqueda tales como Science Direct, Google Académico y PubMed, debido a que estas bases de datos contienen información con artículos publicados de interés.

Las palabras claves que se utilizaron para búsqueda fueron “virus”, “dengue”, “técnicas moleculares”, “diagnóstico”. Dentro de los filtros que se tomaron en cuenta fue el idioma donde se trabajó con documentos publicados en el idioma español e inglés, el segundo filtro que se tomó en cuenta fue la fecha donde solo se tomaron en cuantos artículos publicados entre el rango de años 2010 al 2021. Se tomaron en cuenta criterios de selección tales como:

Criterios de inclusión:

- Documentos que aporten información sobre el diagnóstico del virus del Dengue.
- Artículos que destacan las técnicas moleculares más implementadas para contrarrestar esta enfermedad.
- Estudios publicados dentro del periodo de años 2010 al 2021

Criterios de exclusión:

- Artículos cuyo análisis no correspondan a la búsqueda de interés.
- Documentos publicados de fecha anterior al 2010
- Artículos duplicados

Para llevar a cabo la extracción de datos, 3 revisores aplicaron los criterios de exclusión de forma independiente, asegurando la reproducibilidad, realizando una socialización y discusión de las dudas. De esta forma se seleccionaron los artículos que integraron el estudio.

Los datos se extrajeron de manera estandarizada siguiendo una metodología sistemática por medio de hojas de sustracción diseñadas especialmente para esta selección en el formato Excel. Las propiedades y valores que se consideraron son los próximos:

- Año de publicación
- País
- Datos demográficos
- Tamaño de la muestra
- Prueba utilizada
- Tiempo de detección
- Tipo de muestra
- Serotipo/ antígeno detectado

RESULTADOS

Al realizar la búsqueda se encontró un total de 2,084 artículos relacionados con la investigación en las tres bases de datos. En PubMed se registró 734, en ScienceDirect 100 y en Google Académico 1,250 artículos.

En cada motor de búsqueda se aplicaron los criterios como título, palabras clave, abstract y año de publicación, obteniendo de esta manera un total de 234 artículos.

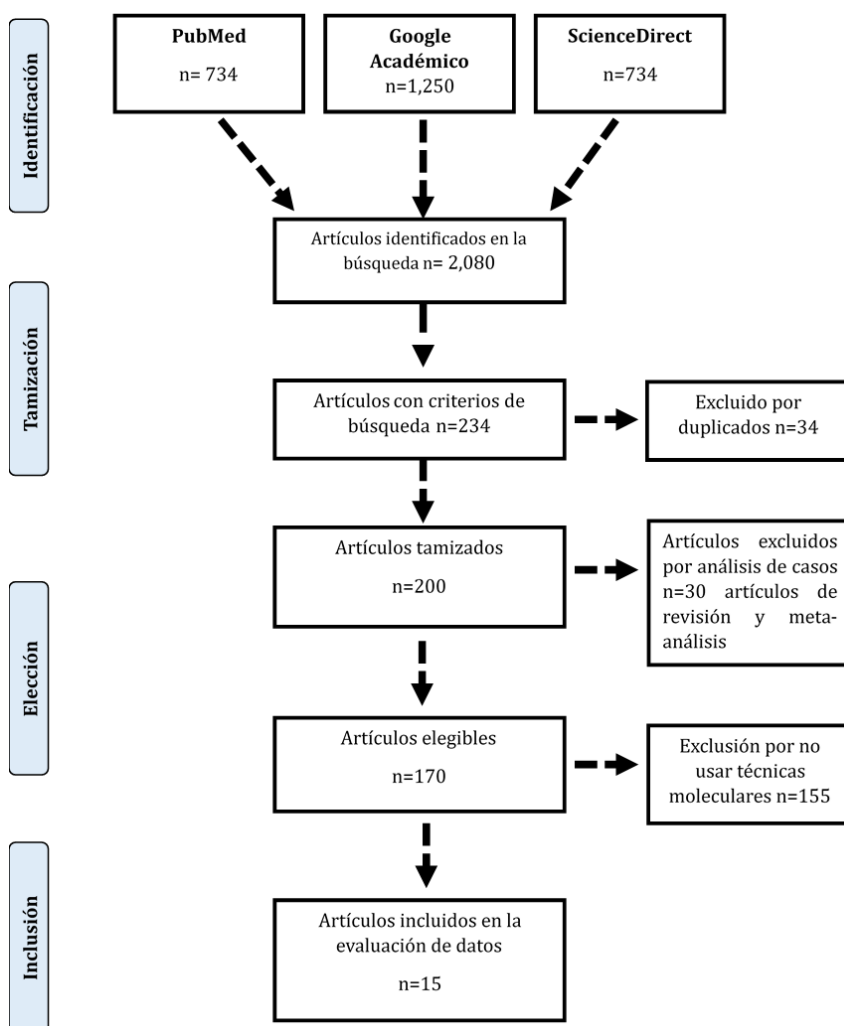
Al revisar los documentos se consideraron 38 artículos duplicados los cuales se eliminaron, quedando 196. De ese total se les aplicó los criterios de inclusión necesarios donde se analizó, si los estudios tratan de investigaciones para vacunas, revisiones, resúmenes publicados y estudios virales en animales, para no considerarlos en la muestra, llegando a obtener solo 30 artículos para analizar, sin embargo, 15 artículos no cumplían como un estudio viral con evaluación de una técnica molecular, por lo que, fueron excluidos quedando finalmente 15 artículos validados para extraer la información. (Figura 1)

De los 15 artículos seleccionados el 13,3% correspondía a PubMed; el 52,8% se encontró en la base Google Académico, y de la base ScienceDirect se seleccionó el 33,4%. La distribución de los estudios realizados en los países fue, Colombia con 33,3% seguido de México con el 26,6%, Lima Perú con el 20% y finalmente España, Paraguay y Puerto Rico con 6,6% de estudios evaluados.

Se observó que por año hubo un reporte de estudio y solo en los años 2011 y 2016 se encontró dos estudios por años todos ellos con investigaciones moleculares para el diagnóstico del dengue.

Figura 1

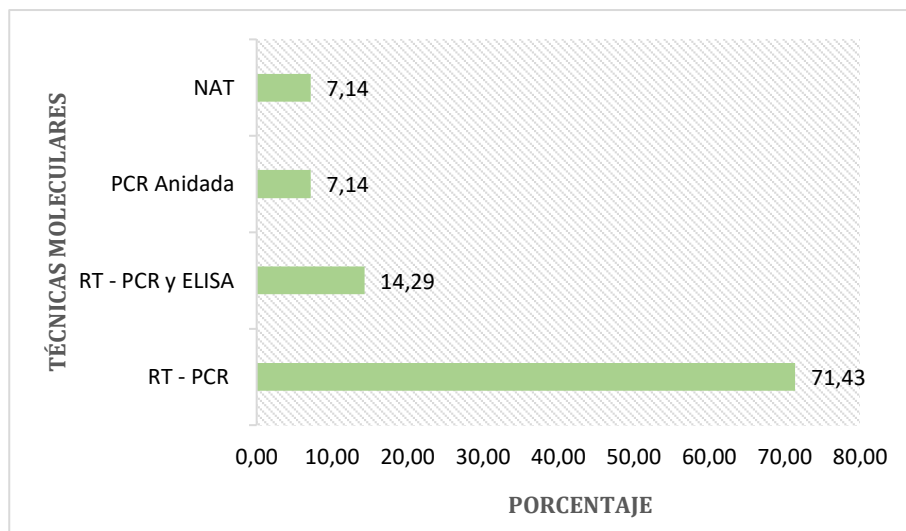
Flujograma de la selección de los artículos en el estudio



De los artículos analizados para la extracción de la información en la base de datos se encontró diferentes pruebas moleculares utilizadas en los estudios; además de la inclusión de pruebas de antígenos para un diagnóstico más amplio. Las técnicas más utilizadas fueron RT-PCR con un 71.43% y RT-PCR en conjunto con ELISA con el 14.29%, otras técnicas como PCR anidada y NAT fueron usadas en menor cantidad con 7.14% para ambas técnicas. (Gráfica 1)

Gráfica 1

Principales técnicas moleculares para el diagnóstico del virus dengue

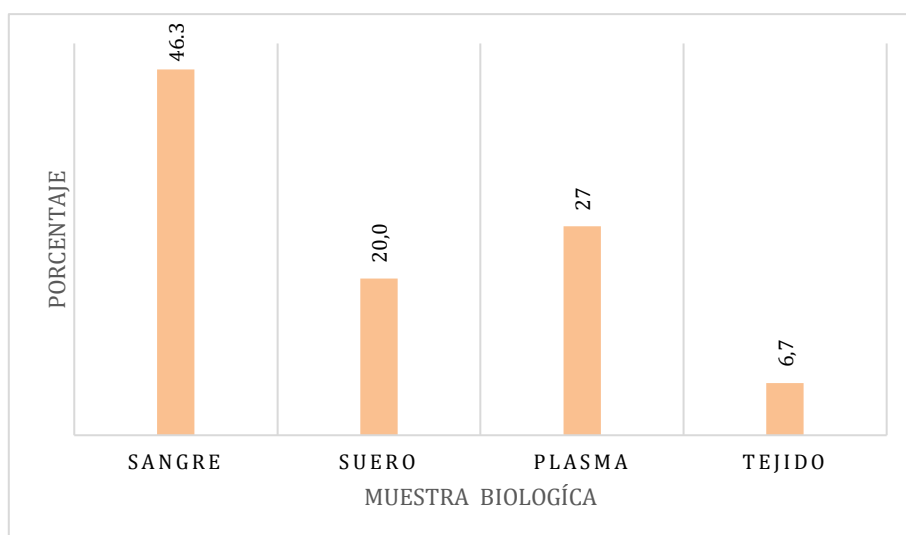


Fuente directa

En la gráfica 2 se muestra los tipos de material biológico que se utilizó en los estudios para llevar a cabo las técnicas moleculares en la detección de presencia del virus dengue; encontrándose que el 46.3% de los estudios se basaron de muestras de sangre, el 27% de plasma, el 20 y 6.7% en suero y tejido respectivamente.

Gráfica 2

Material biológico utilizado en las técnicas moleculares



Fuente directa

En la tabla 1 se observa la variabilidad de posibles blancos moleculares utilizados con las diferentes técnicas que se emplearon para el diagnóstico del virus dengue dentro de la población de estudios, en ello se observa que los cuatros serotipos DENV fueron diagnosticado con las pruebas PCR tanto en RT como la prueba de serología ELISA, ninguno de esos serotipos fue diagnosticado con NAT. Los blancos moleculares como las inmunoglobulinas G y M, así como la NS1 fueron por RT-PCR y ELISA.

Tabla 1

Blancos moleculares utilizados y la técnica empleada en cada estudio

BLANCO MOLECULAR	RT - PCR	RT-PCR /ELISA	PCR ANIDADA	NAT
DEN V1	X	X	X	
DEN V2	X	X	X	
DEN V3	X	X	X	
DEN V4	X	X		
NS1				X
IgG/IgM		X		
NS1 y IgG/IgM	X	X		
Total	5	6	3	1

Fuente directa

DISCUSIÓN

Esta revisión sistemática cobra importancia en la aplicación de las técnicas moleculares como la RT-PCR con sus distintas variantes para la detección del DENV en sus diferentes serotipos. Para la vigilancia entomológica son herramientas prácticas que ayudan en el diagnóstico del virus dengue, transmitido por el vector Aedes y sirven como advertencia en su transmisión viral durante el inicio.²⁰ En los laboratorios de diagnóstico e investigación la aplicación de las técnicas moleculares representa un avance en la amplificación de fragmentos genómicos que ayudan en la identificación de los agentes infecciosos.²¹

Se ha considerado a las proteínas NS1 no estructurales como un marcador importante de diagnóstico en el inicio de la infección por el virus dengue. Se secreta en células infectadas y se encuentra circulando en niveles altos en la sangre del individuo infectado. En el año 2000, se describió por primera vez la captura de antígeno a través de la técnica ELISA para la detección de NS1 en sangre de pacientes.²² En estudios con pruebas de detección de NS1 realizados en 2021 en una población de niños, 75 resultaron positivos y el resto negativo, y en 1 paciente se obtuvo serología IgM positivo.²³

La búsqueda de la IgM por ELISA a nivel mundial ha sido el método de diagnóstico que más se ha utilizado, pero presenta desventaja en su periodo de ventana de 4 a 6 días. La comparación de estudios en el uso de NS1 e IgM para diagnosticar el dengue, se han publicado por la universidad de Quaid-i-Azam en Pakistán, en donde se observó que la sensibilidad del antígeno NS1 se presenta con mayor tasa, en comparación con IgM ELISA y que la PCR en tiempo real, al confirmar la infección por dengue en laboratorios.²⁴ Estudios en el 2014, buscaron relación de casos de dengue, en las fronteras de Estados Unidos y México entre el condado de Yuma y Sonora, encontraron un total de 52 casos confirmados, donde se detectó el 58% con NS1, 40% por detección de DENV IgM, y por NS1 y RT-PCR solo el 2% de los casos, del total de la población

el 62% fueron mujeres.²⁵ En esta investigación se encontró dos estudios que analizaron la relación del NS1 y IgG/IgM con dos diferentes técnicas. La combinación de NS1 con ELISA para la detección de anticuerpos IgM en muestras de suero en los primeros siete días de la enfermedad permite en el 95% de los casos determinar con precisión la enfermedad.²⁶

Por otro lado, de acuerdo a criterios internacionales se han realizado diagnóstico en recién nacidos en base a serología (ELISA-IgM e IgG), cultivo viral y técnicas moleculares (RT-PCR). Watanaveeradej y cols., estudiaron los anticuerpos del dengue en la transmisión vertical de 250 duplas madre-niño y observaron que los anticuerpos de las madres seropositivas pasaron a sus niños.²⁷ Estudios en 2020, sobre seroprevalencia del dengue, con la aplicación de pruebas ELISA ligado a enzimas para dengue indirecta IgG, se encontró en un 91.36%. La seroprevalencia con prueba de captura para IgM fue de 21.41% y de un 20.3% la seropositividad conjunta de los anticuerpos IgM e IgG.²⁸

Para el diagnóstico enfermedades tropicales en laboratorios y algunos centros de investigación se trabajan con muestras de sangre para la PCR ¹⁰ como otros métodos de detección y aislamiento del ARN viral, dentro de ello está el RT-PCR con sensibilidad entre el 80-90% y especificidad por arriba del 95% durante los 3 primeros días de la enfermedad.²⁹

Mishra y cols., en 2022, sometieron su estudio a la detección del ARN viral mediante RT-PCR convencional y el serotipo de dengue se identificó mediante PCR múltiplex un solo tubo que resultó positivo en PCR convencional; sometieron 13 muestras de las 39 que fueron positivas para NS1, donde el 75% se detectó ARN viral de dengue y se aisló un serotipo de DENV-3.⁸ otros estudios con muestras en tejido hepático mediante RT-PCR confirmaron la infección del serotipo DENV2.³⁰

CONCLUSIÓN

En esta revisión se encontró que las pruebas serológicas se siguen utilizando en la detección de la infección por el virus dengue, esto debido a su bajo costo y la simplicidad con la que se opera. Sin embargo, en los centros de investigación y laboratorios privados las técnicas moleculares facilitan la detección y diagnóstico oportuno de la enfermedad. La RT-PCR es la técnica molecular que más se utiliza en los estudios de detección del virus en cualquiera de sus serotipos circulantes. Cabe destacar que las ventajas que representa la RT – PCR son el hecho que cuenta con una alta sensibilidad, así como también su alta especificidad, otra de sus ventajas es que se requiere de pocas muestras para su aplicación, así como la optimización y rapidez. Por otro lado, se observó que en los países donde se estudiaron la detección del virus, las pruebas moleculares no difieren entre ellos.

REFERENCIAS

Berberian, Griselda, Fariña, Diana, Rosanova, María Teresa, Hidalgo, Solange, Enría, Delia, Mitchenko, Alicia, Moreno, Julio, & Sánchez Soto, Isabel. (2011). Dengue perinatal. Archivos argentinos de pediatría, 109(3), 232-236. Recuperado en 07 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752011000300008&lng=es&tlng=es. DOI: 10.1590/S0325-00752011000300008

Bernal Vega, Erica Eliana, Iramain Chilavert, Ricardo, Jara Ávalos, Alfredo Ramón, Delvalle Acosta, Edith María Rossana, Arzamendia Alarcón, Laura Patricia, & Román Almada, Landhy Elizabeth. (2021). Caracterización clínica y laboratorio de pacientes pediátricos con dengue sin signos de alarma en un hospital de referencia de Paraguay. Pediatría (Asunción), 48(2), 127-132. Epub August 00, 2021. <https://doi.org/10.31698/ped.48022021007>

Blacksell, SD, Bell, D., Kelley, J., Mammen, MP, Jr, Gibbons, RV, Jarman, RG, Vaughn, DW, Jenjaroen, K., Nisalak, A., Thongpaseuth, S., Vongsouvath, M., Davong, V., Phouminh, P., Phetsouvanh, R., Day, NPJ y Newton, PN (2007). Estudio prospectivo para determinar la precisión de los ensayos serológicos rápidos para el diagnóstico de la infección aguda por el virus del dengue en Laos. Inmunología clínica y de vacunas: CVI, 14 (11), 1458-1464. <https://doi.org/10.1128/CVI.00482-06>

Camacho, Daría, Reyes, Jesús, Franco, Leticia, Comach, Guillermo, & Ferrer, Elizabeth. (2016). Clonación de secuencias de alfavirus y flavivirus para su uso como controles positivos en el diagnóstico molecular. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 33(2), 269-273. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2016.332.2101>

Castañeda-Ruelas, Gloria Marisol, Guzmán-Uriarte, José Roberto, Valdez-Torres, José Benigno, & León-Félix, Josefina. (2022). Evaluación de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real acoplado a separación inmunomagnética (PCRTR-IMS) como método alternativo para la detección rutinaria de Salmonella spp. en carne de res en México. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 13(3), 625-642. Epub 22 de agosto de 2022. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i3.5997>

Dávila, Sonia & Castelán, Hugo & Perez-Rueda, Ernesto. (2019). Virus por todos lados. DOI: 10.13140/RG.2.2.27644.36482

Dehesa LE, Gutiérrez AAFA. (2019). Dengue: actualidades y características epidemiológicas en México. Rev Med UAS;9(3):159-170. <http://dx.doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v9.n3.006>

Gonzalez, A. P., Escalante, A. A., Pujol, F. H., Ludert, J. E., Tovar, D., Salas, R. A., & Liprandi, F. (2002). Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type 1. Virology, 303(1), 110-119. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1686>

González-Díez, R. (2004). VIII. NAT y seguridad de la transfusión sanguínea, 140 (3). Medigraphic.com. <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043ab.pdf>

Guzman, M. G., Halstead, S. B., Artsob, H., Buchy, P., Farrar, J., Gubler, D. J., Hunsperger, E., Kroeger, A., Margolis, H. S., Martínez, E., Nathan, M. B., Pelegrino, J. L., Simmons, C., Yoksan, S., & Peeling, R. W. (2010). Dengue: a continuing global threat. Nature Reviews. Microbiology, 8(12 Suppl), S7-16. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2460>

Guzmán, MG, & Kourí, G. (2004). Diagnóstico del dengue, avances y desafíos. Revista Internacional de Enfermedades Infecciosas: IJID: Publicación Oficial de la Sociedad Internacional de Enfermedades Infecciosas, 8(2), 69-80. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2003.03.003>

Holmes, CE (2006). La biología evolutiva del virus del dengue. Simposio de la Fundación Novartis , 277 , 177–187; discusión 187-92, 251-253. <https://doi.org/10.1002/0470058005.ch13>

Hunsperger, E. A. et al. (2016), “Performance of Dengue Diagnostic Tests in a Single-Specimen Diagnostic Algorithm”, *J Infect Dis*, 214(6):836-844. doi: 10.1093/ infdis/jiw103

Jun, 23. (n.d.). Casos de dengue superan los 1,6 millones en América, lo que pone de relieve la necesidad del control de mosquitos durante la pandemia. Paho.org. Retrieved March 6, 2023, from <https://www.paho.org/es/noticias/23-6-2020-casos-dengue-superan-16-millones-america-lo-que-pone-relieve-necesidad-control>

Kindhauser, MK y Organización Mundial de la Salud. (2003). Enfermedades transmisibles 2002: defensa mundial contra la amenaza de las enfermedades infecciosas: Dengue y fiebre hemorrágica / editado por Mary Kay Kindhauser, 140 (3), Organización Mundial de la Salud. ISBN: 99241590297 Versión digital disponible: <http://www.minsa.gob.pe/bvsminsa.asp>

Ma, H., Shieh, K.-J., & Lee, S.-L. (2006). Study of ELISA technique. *Nature and Science* 4 (2). 36-37. Sciencepub.net. <http://sciencepub.net/nature/0402/08-0137-mahongbao.pdf>

Medeiros, A. S., Costa, D. M. P., Branco, M. S. D., Sousa, D. M. C., Monteiro, J. D., Galvão, S. P. M., Azevedo, P. R. M., Fernandes, J. V., Jeronimo, S. M. B., & Araújo, J. M. G. (2018). Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte, Brazil: Importance of virological and entomological surveillance. *PloS one*, 13(3), e0194108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194108>

Mishra, M., Yadav, S.K., Mishra, S.K., & Ratho, R.K. (2022). Molecular detection and characterization of dengue isolates circulating in north India. *Iranian Journal of Microbiology*, 14, 104 - 111. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i1.8811>

Molinerós Gallón, Luis Fernando, Pinzón Gómez, Elisa María, Rengifo García, Nubia Esperanza, Daza Rivera, Carlos Frishevald, Hernández-Carrillo, Mauricio, Ortiz Carrillo, María Eugenia, & Lesmes Duque, María Cristina. (2020). Seroprevalencia de dengue en municipios con transmisión hiperendémica y mesoendémica, Valle del Cauca, Colombia. *Revista Cubana de Salud Pública*, 46(2), e1256. Epub 01 de junio de 2020. Recuperado en 07 de marzo de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662020000200008&lng=es&tIng=es.

Muller, D. A., Depelsenair, A. C., & Young, P. R. (2017). Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. *The Journal of infectious diseases*, 215(suppl_2), S89–S95. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw649>

Perera, Carmen Laura, & Acevedo, Ana María. (2018). Nuevas tendencias en el diagnóstico de enfermedades virales en los animales. *Revista de Salud Animal*, 40(3), e02. Recuperado en 12 de marzo de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253570X2018000300007&lng=es&tIng=es

Rivera, Jorge & Neira, Marcela & Parra, Edgar & Méndez, Jairo & Sarmiento, Ladys & Caldas, María. (2014). Detección de antígenos del virus dengue en tejidos post mortem. *Biomédica*. 34. 10.7705/biomedica.v34i4.2169. DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i4.2169>

Rodríguez, P. H. (2003). Técnicas moleculares: Un avance en el diagnóstico y conocimiento de patología ocular. *Ciencia y tecnología para la salud visual y ocular*, 1(1), 113–123. <https://doi.org/10.19052/issn.1692-8415>

Rodríguez-Salazar, CA, Recalde-Reyes, DP, González, MM, Padilla Sanabria, L., Quintero-Álvarez, L., Gallego-Gómez, JC, & Castaño-Osorio, JC (2016). Manifestaciones clínicas y pruebas de laboratorio de una serie de casos febriles agudos con diagnóstico presuntivo de infección por el virus del dengue. Quindío (Colombia). Infectio: revista de la Asociación Colombiana de Infectología, 20 (2), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.08.003>

Suleman M, Faryal R, Alam MM, Sharif S, Shaukat S, Aamir UB, et al. (2016) NS1 antigen: A new beam of light in the early diagnosis of dengue infection. Asian Pac J Trop Med;9(12):1212- 1214

Urgilés Esquivel, J., & Ortiz, J. G. (2021). Métodos diagnósticos de la boratório para coronavirus 2019 n-cov. Revista Vive, 4(10), 107–127. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i10.80>

Vaughn, D. W., Nisalak, A., Solomon, T., Kalayanaroj, S., Nguyen, M. D., Kneen, R., Cuzzubbo, A., & Devine, P. L. (1999). Rapid serologic diagnosis of dengue virus infection using a commercial capture ELISA that distinguishes primary and secondary infections. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 60(4), 693–698. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.60.693>

Villamil-Gómez, W. (2022). Diagnostic protocol for febrile syndrome of respiratory origin in geographical areas of endemic risk of tropical infections. Medicine, 13(58),3432–3437. <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.05.033>

Watanaveeradej, V., Endy, T. P., Samakoses, R., Kerdpanich, A., Simasathien, S., Polprasert, N., Aree, C., Vaughn, D. W., Ho, C., & Nisalak, A. (2003). Transplacentally transferred maternal-infant antibodies to dengue virus. The American journal of tropical medicine and hygiene, 69(2), 123–128.

Wilder-Smith, A., & Rupali, P. (2019). Estimating the dengue burden in India. The Lancet. Global Health, 7(8), e988–e989. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30249-9](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30249-9)

Todo el contenido de **LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades**, publicados en este sitio está disponibles bajo Licencia [Creative Commons](#) 