



DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE PRUEBAS RÁPIDAS PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DEL DENGUE

López Guzmán Sergio¹, Gaóna Hernández Liliana², Jiménez Fajardo Silvia³, Orozco Ortiz Ana Patricia⁴

Laboratorio Estatal De Salud Pública Del Estado De Michoacán¹ virologialesp@hotmail.com
Universidad Tecnológica De Morelia¹ apoo_21@hotmail.com

RESUMEN

El Dengue es una enfermedad febril aguda de origen viral causada por cualquiera de los 4 serotipos del complejo Dengue los cuales se denominan, Dengue 1 (Den-1), Dengue 2 (Den-2), Dengue 3 (Den-3) y Dengue-4 (Den-4). Estos se transmiten al hombre a través de la picadura de mosquitos del género *Aedes*, principalmente *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, dando lugar a la infección. Se estima que entre 50 y 100 millones de casos de Dengue ocurren cada año en el mundo, de las cuales 250,000-500,000 casos desarrollan el cuadro severo de la enfermedad y alrededor de 25,000 fallecen.

El Virus del Dengue desencadena síntomas que de no ser tratados podría ser mortales o sumamente peligrosos para la salud. El aumento en México en el año 2012 se notó un incremento del 275% a nivel nacional. En Michoacán se encuentran tres de los cuatro serotipos que hay del Dengue, con la excepción del serotipo 3.

Se realizaron las pruebas rápidas para el diagnóstico de Dengue a 100 muestras de suero sanguíneo de pacientes con posible caso de Fiebre por Dengue (FD) y Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD). Estas pruebas fueron confirmadas con inmunoensayos ELISA de captura de anticuerpos IgM e IgG contra Dengue, las cuales concordaban en un 82% mientras que el 18% discrepaban del resultado confirmatorio por el inmunoensayo ELISA de captura.

Los cálculos para la determinación de sensibilidad y especificidad de las pruebas rápidas arrojaron un **77.1%** en sensibilidad y otro **87.8%** de especificidad que de acuerdo a el Procedimiento para la Aplicación del Nuevo Algoritmo por Laboratorio de Fiebre por Dengue y



Fiebre Hemorrágica por Dengue, que establece el Instituto de Referencia Epidemiológica (InDRE) y la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP), un porcentaje aceptable para este diagnóstico debe alcanzar 70% de especificidad y sensibilidad.

1. INTRODUCCIÓN

El mosquito transmisor del Dengue, *Aedes aegypti*, es un ejemplo de adaptación de una especie al ámbito humano, con criaderos, hábitats, fuente de alimentación y desplazamiento activos y pasivos ligados al entorno domiciliario. La enfermedad constituye uno de los principales desafíos para el control y la vigilancia epidemiológica en los albores del siglo XXI. El reto principal para la prevención y control del Dengue en México, es hacer más eficientes las acciones anticipatorias en todos los estados del país para evitar la aparición de brotes y en su caso, atenderlos de forma oportuna y evitar su dispersión. Aunque la enfermedad depende de la presencia y abundancia de los mosquitos (vectores), la transmisión es además, función de la circulación de los diferentes serotipos del virus del Dengue y de la cantidad de personas susceptibles o inmunes.

La enfermedad está condicionada en buena medida a la distribución del *Aedes aegypti*, que se reproduce en las viviendas de prácticamente todas las zonas urbanas del área de riesgo en México.



(Larva de mosquito *Aedes aegypti*)



(Criadero de mosquitos)

En estas áreas, las condiciones para la proliferación del vector se presentan en una sociedad donde prevalecen la falta de conciencia, conocimiento y actitud de las familias en el control y eliminación de criaderos, así como la carencia de prácticas de autoprotección, como el uso de mosquiteros en puertas y ventanas o el uso de insecticidas domésticos, además de la dificultad para que los programas locales de control implementen de forma oportuna, secuencial, sincronizada y con cobertura completa, las acciones anti-vectoriales, incluyendo la integración y participación de la comunidad.



La incertidumbre médica se extiende no sólo a las actividades preventivas, terapéuticas y pronósticas sino también a las diagnósticas. En las fases del proceso diagnóstico intervienen la historia clínica, la exploración física y la realización de pruebas complementarias. Cuando existen varias hipótesis diagnósticas, se realizará el diagnóstico diferencial y las pruebas complementarias tratarán de aclarar las dudas existentes. Si solamente hay una sospecha diagnóstica, las pruebas complementarias tratarán de confirmarla.

2. TEORÍA

2.1 Enfermedades Virales Transmitidas por Artrópodos y Roedores.

Los virus transmitidos por artrópodos y roedores (arbovirus) representan agrupamientos de virus con ciclos de transmisión complejos en los que intervienen artrópodos y roedores, estos virus tienen diversas propiedades físicas y químicas y se clasifican en varias familias de virus.

Los artrópodos que succionan la sangre transmiten los arbovirus de un huésped vertebrado a otro. El vector adquiere una infección de por vida por la ingestión de sangre de un vertebrado viremico. Los virus se multiplican en los tejidos (células epiteliales del intestino medio) del artrópodo sin evidencia de enfermedad o daño.

Las principales enfermedades por arbovirus en todo el mundo son la fiebre amarilla, el **Dengue**, encefalitis japonesa B, encefalitis de San Luis, encefalitis equina occidental, encefalitis equina oriental, encefalitis rusa de primavera-verano, fiebre del oeste del Nilo y la fiebre por mosca fleboromo.

2.2 El Vector: *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*

Especialmente importantes son el *Aedes aegypti* y el *Aedes albopictus*. El *Aedes aegypti* es el principal responsable de la transmisión en el mundo incluyendo a México. Recientemente, otra de las especies vectoriales, el *Aedes albopictus*, ha aumentado su distribución geográfica alcanzando ya la frontera norte de algunos estados de México, lo que significa la presencia de un vector comprobado y de otro probable en México.

2.3 Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue.

Se debe sospechar que una persona padece Fiebre por Dengue (FD) cuando presenta una fiebre elevada (40 °C) se acompaña de dos de los síntomas siguientes: dolor de cabeza muy



intenso, dolor detrás de los globos oculares, dolores musculares y articulares, náuseas, vómitos, agrandamiento de ganglios linfáticos o salpullido. Los síntomas se presentan al cabo de un periodo de incubación de 4 a 10 días después de la picadura de un mosquito infectado y por lo común duran entre 2 y 7 días.

El Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) es una complicación potencialmente mortal porque cursa con extravasación de plasma, acumulación de líquidos, dificultad respiratoria, hemorragias graves o falla orgánica. Los signos que advierten de esta complicación se presentan entre 3 y 7 días después de los primeros síntomas y se acompañan de un descenso de la temperatura corporal (menos de 38 °C) y son los siguientes: dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, respiración acelerada, hemorragias de las encías, fatiga, inquietud y presencia de sangre en el vómito. Las siguientes 24 a 48 horas de la etapa crítica pueden ser letales; hay que brindar atención médica para evitar otras complicaciones y disminuir el riesgo de muerte.

2.4 El Virus del Dengue

El Virus del Dengue (VD) está constituido por una cadena simple de alrededor de 11 kilobases (Kb) de ARN de polaridad positiva. Este complejo viral formado por cuatro serotipos filogenéticamente diferentes (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) estrechamente relacionados con los serotipos del género *Favivirus* de la familia *Flaviviridae*, tiene un genoma que codifica tres proteínas; la proteína C, que compone la cápside que rodea y protege al ácido nucleico; la proteína M, que forma la membrana viral y la proteína E, que conforma la envoltura; y siete proteínas no estructurales. (Ver figura 5). Se sabe que la glicoproteína E desempeña un papel fundamental durante la penetración del virus en la célula y en la respuesta inmunitaria.

2.5 Cuadro Clínico

Los rasgos clínicos de la FD dependen frecuentemente de la edad del paciente; los lactantes y niños pequeños pueden manifestar un cuadro febril indiferenciado con erupción maculopapular y que puede confundirse con otras infecciones virales exantemáticas. Los niños mayores y los adultos pueden presentar un síndrome febril leve o la enfermedad clásica incapacitante de inicio brusco, fiebre alta, cefalea, dolor retroocular, mialgias, artralgias, erupción cutánea, náusea y vómito; generalmente la prueba de torniquete es positiva. Se puede encontrar leucopenia y rara vez se observa trombocitopenia. La tasa de letalidad es muy baja.



3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Resultado

En el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Michoacán se procesaron 100 muestras procedentes de las diferentes municipios del estado de Michoacán, de pacientes con posible caso de Dengue, las cuales de acuerdo al algoritmo establecido por la RNLSP y el InDRE, se procesaron a IgM e IgG, las cuales dieron resultados positivos y negativos. Posteriormente, estas muestras se procesaron a pruebas rápidas Human Hexagon para comparar sus resultados. Se marcaron la discrepancias entre ambas pruebas ELISA y Human Hexagon, tomando en cuenta que ELISA tiene una alta Sensibilidad y Especificidad (IgM: sensibilidad de 94.7% y especificidad del 97.2%) (IgG: sensibilidad del 94.5% y especificidad del 97.3%), su resultado es el que se tomo en cuenta para dar el diagnostico a los pacientes.

Total de Casos	ELISA		Human Hexagon	
100	100		100	
De las Cuales...	ELISA		Human Hexagon	
	POS	NEG	POS	NEG
	40	60	26	74

Tabla 1. Informe Global Total por Pruebas ELISA y Human Hexagon.

De las muestras obtenidas y procedentes de los diferentes municipios que pertenecen a ocho jurisdicciones sanitarias del estado de Michoacán, se muestra una gráfica de los casos reportados por jurisdicción de una muestra aleatoria de muestras del periodo Marzo-Abril del 2012. Así como el porcentaje de casos reportados por jurisdicción en el estado de Michoacán. La relación de resultados entre las pruebas ELISA y Human Hexagon es la siguiente:

	ELISA		HUMAN	
	IgM	IgG	IgM	IgG
NEGATIVAS	72	71	81	82
POSITIVAS	27	28	19	18
INDETERMINADAS	1	1		
	100	100	100	100

Tabla 2. Relación de Casos entre ELISA y Human Hexagon



Figura 3. Esquema de Casos Confirmados por Municipio

Cálculos Para Determinar la Especificidad de las Pruebas Rápidas

Tomando estos datos y sustituyendo en la formula correspondiente a la Sensibilidad, el resultado para calcular la Sensibilidad de las Pruebas Rápidas, es el siguiente:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN} \times 100$$

Donde:

Verdadero positivo (VP)

Falso negativo (FN)

$$\text{Sensibilidad} = \frac{35}{35 + 20} \times 100 = 63.63\%$$



Figura 18. Esquema Porcentual de Sensibilidad de las Pruebas Rápidas Human Hexagon

Tomando en cuenta los resultados, se sustituyendo en la formula se obtendrá el valor de la Especificidad de las Pruebas Rápidas.

Tomando como datos para calcular la Especificidad, los valores serán:

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP} \times 100$$

Donde:

Verdadero negativo (VN)

Falso positivo (FP)

$$\text{Especificidad} = \frac{143}{143 + 2} \times 100 = 98.86\%$$



Figura 19. Esquema Porcentual de Especificidad de las Pruebas Rápidas Human Hexagon

4. CONCLUSIONES

La infección por Dengue puede ser peligrosa si no se trata a tiempo, y puede desarrollar complicaciones como Fiebre Hemorrágica por Dengue y Choque por Dengue. Por tal motivo, su



detección oportuna es de vital importancia, puesto que una vez que una persona se diagnostica con la infección y se le da el tratamiento adecuado se puede reducir a menos del 1% la tasa de mortalidad incluso una vez diagnosticada la Fiebre Hemorrágica por Dengue. Por tal motivo las pruebas rápidas resultan ser de vital importancia sobretodo en zonas rurales donde la atención médica no está al alcance de las unidades médicas correspondientes.

Las Pruebas Rápidas empleadas para el desarrollo de este proyecto resultaron ser aceptables en cuanto a su Especificidad, mas no por la Sensibilidad que estas presentan y que no alcanzaron las pruebas rápida, puesto que el Instituto de Referencia Epidemiológica (InDRE) Y la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP) aceptan un porcentaje de 70% o más de Sensibilidad y Especificidad. En realidad no hay un organismo o norma que regule el porcentaje debido que debe cumplir una prueba rápida para el diagnóstico de Dengue, pues estos estándares son implementados por el mismo laboratorio que los elabora y aceptados por los laboratorios de diagnostico que los emplean.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) A. Balmaseda. (2011). *Manual de Procedimientos de Técnicas para el Diagnóstico del Dengue*. Republica de Nicaragua: Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia del Ministerio de Salud.
- 2) A. Duarte, L. López, V. Iramain, E. Álvarez, W. Basualdo, P. Alfieri. (2009). *Manejo del Síndrome de Shock Dengue (SSD) en una UCIP*. Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos. Hospital General Pediátrico "Niños de Acosta Nú" (HGP).
- 3) C. Ramos, H. García, J.M. Villaseca. (1993). *Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue*. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- 4) Dantés, S. Ibañez Bernal & H. Gómez (1995). *Vectores del Dengue en México; Una Revisión Crítica*. México: Artículos Originales .
- 5) Delgado I., Vazquez S., Bravo J.R. y Guzman M.G. (2002). *Predicción del serotipo del Virus del Dengue Mediante la Respuesta de Anticuerpos IgM*. Cuba: Instituto de Medicina Tropical Pedro Couri.
- 6) Dirección de Epidemiología y Ministerio de Salud de la Nación. (2009). *Enfermedades Infecciosas: Dengue 2da Edición*. Argentina: Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación.
- 7) J. Gathany. (2006). *Aedes aegypty*. United States of America: Department of Health and Human Services.