



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

SURVEILLANCE OF DENGUE WITH IMMUNOENZYMATIC TEST UMELISA IGM DENGUE PLUS

VIGILANCIA DEL DENGUE CON ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO UMELISA IGM DENGUE PLUS

Elvio Luis Alvarez-Maturell¹; Ileana Pérez-Parrado² & Manuel Vicente Álvarez-Ramírez²

¹ Laboratorio de tecnología SUMA del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM), Ciego de Ávila, Cuba.

² Laboratorio de confirmación LISIDA del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM), Ciego de Ávila, Cuba.

Author for correspondence: E-mail: labsumaca@infomed.sld.cu

ABSTRACT

Dengue constitutes the viral disease transmitted by arthropods of greater medical importance and the most important in terms of morbidity and mortality, thus dengue surveillance is important. An observational cross-sectional study was carried out from January to December 2017 at the Advanced Technology Laboratory SUMA of the Provincial Center of Hygiene, Epidemiology and Microbiology (CPHEM) of Ciego de Ávila, Cuba, to specimen samples of sera taken from people with UFS (Unspecific Fever Symptoms) from the 6th day of the date of onset of symptoms, to detect IgM antibodies against dengue using the immunoassay UMELISA IgM Dengue Plus. The month of greatest reactivity was October (25.99%) and the most affected municipalities with reactivity were Baragüa (20%), Ciego de Ávila (11.99%), Morón (11.86%) and Ciro Redondo (11.11%). The positive and negative internal control serum of the assay was under statistical control. The concordance between the trials was 86.60% and the prevalence for the UMELISA IgM Dengue Plus trial was 10.32%.

Keywords: Dengue Surveillance – ELISA IgM – UMELISA IgM PLUS DENGUE – Unspecific Fever Symptoms

RESUMEN

El Dengue constituye la enfermedad viral transmitida por artrópodos de mayor importancia médica y la más importante en términos de morbilidad y mortalidad por consiguiente es importante la vigilancia del dengue. Se realizó un estudio observacional tipo transversal desde enero a diciembre del 2017 en el Laboratorio de Tecnología Avanzada SUMA del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Ciego de Ávila, Cuba. Las muestras de

sueros fueron tomadas de personas con SFI (Síndromes Febriles Inespecíficos) a partir del 6^o día de la fecha de inicio de los síntomas para detectar anticuerpos IgM contra dengue, para lo cual se utilizó el ensayo inmunoenzimático UMELISA IgM Dengue Plus. El mes de mayor reactividad fue octubre (25,99%) y los municipios más afectados con reactividad fueron Baragüa (20%), Ciego de Ávila (11,99%), Morón (11,86%) y Ciro Redondo (11,11%) que fueron municipios que tuvieron transmisión. El suero control interno positivo y negativo del ensayo estuvo bajo control estadístico. La concordancia entre los ensayos fue de 86,60 % y la prevalencia para el ensayo UMELISA DENGUE IgM Plus fue de 10,32 %.

Palabras clave: ELISA IgM – Síndromes Febriles Inespecíficos – Vigilancia del Dengue – UMELISA DENGUE IgM Plus

INTRODUCCIÓN

El Dengue es una enfermedad febril aguda de comienzo súbito (Ávila-Agüero, 2008; Rivera & Rodríguez, 2010; Rivera *et al.*, 2011; Sandoval *et al.*, 2012), la misma se caracteriza por fiebre, cefalea, artralgia, mialgia, rash, náuseas, vómitos y es causada por el virus del Dengue que pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus* y que tiene cuatro serotipos virales DEN -1, DEN - 2, DEN - 3 y DEN - 4 (Calderón & Blanco, 2007; Jaenish & Wills, 2008; Martínez, 2009; Salud *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2012). Es transmitida por la picada del mosquito hembra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) y *A. albopictus*, Skuse, 1895 (Ávila-Agüero, 2008; Rivera & Rodríguez, 2010; Rivera *et al.*, 2011; Rivera *et al.*, 2012; Sandoval *et al.*, 2012). Constituye la enfermedad viral transmitida por artrópodos de mayor importancia médica y la más importante en términos de morbilidad y mortalidad (Guzmán & Kouri, 2002; Posada *et al.*, 2010). En los últimos años, la fiebre del dengue, ha re-emergido acompañada de una amplia distribución geográfica tanto del virus como del mosquito, una incrementada actividad epidémica, el desarrollo de hiper-endemicidad, o lo que es lo mismo la co-circulación de los diferentes serotipos y la aparición de la enfermedad en nuevas zonas geográficas (Marco & Cabrera, 2006).

Desde 1998 el dengue es la enfermedad infecciosa tropical más importante, seguida de la malaria, con estimado de 2,5 billones de personas y más de 100 países en áreas de riesgo, 50-100 mill de casos anuales, 500.000 casos hospitalizados de fiebre hemorragia del dengue con 25.000 muertes cada año (Kouri, 2011; Posada *et al.*, 2013). En la región de la América, el dengue ha mantenido un aumento sostenible en los últimos 25 años, con brotes epidémicos que se repiten de manera cíclica (Kouri, 2011; Posada *et al.*, 2013). Durante el año 2002 se notificaron más de un millón de casos, y en el 2005, se apreció un discreto aumento respecto a los 2 años precedentes. Aproximadamente, dos quintas partes de la población mundial están en riesgo y más de 100 países han sufrido brotes de dengue (Kouri, 2011).

Hasta la actualidad el Dengue sigue siendo la enfermedad emergente y re-emergente más importante constituyendo un serio problema de salud (Valdivia *et al.*, 2006; Sandoval *et al.*, 2012), al mismo tiempo se han incorporados otras enfermedades como el Zika, Chikungunya y Fiebre amarilla que son transmitida por el mismo vector. Al igual que en todo el país en la provincia de Ciego de Ávila, Cuba, han ocurrido eventos epidemiológicos de brotes esporádicos Posada *et al.*, 2010, 2013). Evidenciándose esto como un serio problema de salud que afecta negativamente la economías, ya que origina altos costos de hospitalización, asistencia de enfermos y campañas de emergencias para el control del vector (Marco & Cabrera, 2006; Sandoval *et al.*, 2012). Por lo que se necesita de mejores insecticidas, vacunas seguras, nuevos medicamentos y métodos de diagnóstico rápidos.

En la actualidad para la vigilancia de laboratorio se utilizan pruebas directas como el aislamiento viral, PCR-TR, detección de NS1 y pruebas indirectas de detección de anticuerpos específicos IgM, IgG¹. Se conoce que la detección de la segunda confirma los casos y al ser detectados los primeros contra el virus de dengue indican infección activa o reciente. Esta clase de anticuerpos se desarrollan tempranamente y de forma general a partir del 6^o día de comienzo de los síntomas y como promedio disminuyen a partir de los 30 días, aunque pueden detectarse en mayor tiempo, más de 90 días en algunos casos (Alcon *et al.*, 2002; Libraty *et al.*, 2002; Blacksell *et al.*, 2006; Buchy *et al.*, 2006; Dussart *et al.*, 2006; Valdivia *et al.*, 2006; Nga *et al.*, 2007; Vásquez *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2009; Hunsperger *et al.*, 2009; Vásquez *et al.*, 2009; Bessoff *et al.*, 2010; Guzmán *et al.*, 2010; Tricou *et al.*, 2010; Vásquez *et al.*, 2010; Young *et al.*, 2010). Es por ello que el UMELISA DENGUE IgM Plus, ensayo inmunoenzimático heterogéneo de tipo captura, es utilizado en Cuba desde 1990 (Valdivia *et al.*, 2006; Dussart *et al.*, 2008), e introducido en la provincia desde 2005, para la detección de anticuerpos específicos IgM dirigido contra los cuatro serotipos del virus dengue en especímenes de suero humano con Síndromes Febriles Inespecíficos (SFI). Siendo de gran importancia la vigilancia

epidemiológica y del laboratorio con la ejecución del ensayo UMELISA DENGUE IgM Plus que presenta una sensibilidad y especificidad por encima de 97 % y 94 %, respectivamente (Valdivia *et al.*, 2006). Esta prueba es usada para la pesquisa primaria del dengue, siendo un método sensible, específico, rápido y barato, de gran importancia para lograr una vigilancia adecuada que permita el control del vector y el cese de la transmisión viral (Alcon *et al.*, 2002; Libraty *et al.*, 2002; Blacksell *et al.*, 2006; Buchy *et al.*, 2006; Dussart *et al.*, 2006; Valdivia *et al.*, 2006; Nga *et al.*, 2007; Vásquez *et al.*, 2007; Han *et al.*, 2009; Hunsperger *et al.*, 2009; Vásquez *et al.*, 2009; Bessoff *et al.*, 2010; Guzmán *et al.*, 2010; Tricou *et al.*, 2010; Vásquez *et al.*, 2010; Young *et al.*, 2010). Este ensayo es de gran utilidad, tanto en el diagnóstico de casos clínicamente presuntivo de dengue, como de gran apoyo en los sistemas de vigilancia epidemiológica de esta entidad, los cuales operacionalizan a las reactivas como casos sospechosos. Por lo que es importante valorar la detección de los anticuerpos IgM Dengue con el ensayo inmunoenzimático UMELISA DENGUE IgM Plus en la vigilancia del Dengue.

El objetivo de la presente investigación fue valorar la detección de anticuerpos IgM Dengue con el ensayo inmunoenzimático UMELISA DENGUE IgM Plus en la vigilancia del dengue.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional tipo transversal desde enero a diciembre del 2017 en el Laboratorio de Tecnología Avanzada SUMA del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Ciego de Ávila, Cuba a muestras de especímenes de sueros que fueron tomadas a personas con SFI a partir del 6^o día de la fecha de inicio de los síntomas, para detectar anticuerpos IgM contra dengue empleando el ensayo inmunoenzimático UMELISA IgM DENGUE Plus con el software para lectores de tiras Strips Reader acoplado al lector de placa PR-521, los lavados intermedios se realizaron con el lavador automático de placas de UMELISA MW-2001 Versión 2.00. El total de monosuero procesados fue de 3218 pacientes y los datos fueron sacados del registro de estadística semiautomatizados del laboratorio SUMA. Se calculó en por ciento con Intervalos de Confianza (IC) 95 % la reactividad por meses y municipios. La concordancia con el índice kappa se calculó entre el ensayo UMELISA IgM DENGUE PLUS y el ensayo ELISA MAC que se realizó en el laboratorio de referencia del IPK en la Ciudad de La Habana, Cuba a un total de muestras reactivas de 328 y un total de 160 muestras como el control de calidad del 10 % de muestras negativas enviadas. Estos datos fueron analizados con el programa para análisis epidemiológico

de datos tabulados EPIDAT versión 3,1 distribuido por la Xunta de Galicia y OPS (Organización Panamericana de la Salud). Para reportar el comportamiento del suero control interno positivo del ensayo UMELISA IgM DENGUE Plus, se calculó el promedio en el año a 207 corridas, la desviación estándar, los límites de control inferior y superior con dos desviaciones estándares con las formulas de las hojas de cálculos Microsoft Office 2003 (Excel.xls). Se determinó el valor de repetibilidad del suero control interno negativo al 95 % de confianza que fue de 2,7 y fueron ploteados los resultados de la diferencia del valor del suero control interno negativo máximo menos suero control interno negativo mínimo del ensayo en cada corrida para poder observar si el ensayo esta bajo control estadístico. Los datos fueron procesados en computadora Intel Pentium Dual – Core – Incide™, Sistema Operativo Microsoft Windows^{xp} y los resultados se presentaron en gráficos.

Aspectos éticos: los autores indican que se cumplieron todos los aspectos éticos nacionales e internacionales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra el porcentaje de reactividad con el ensayo inmunoenzimático UMELISA IgM DENGUE PLUS de enero a diciembre 2017 donde se puede apreciar una reactividad de 18,34% con IC95% (13,70 – 22,97) en el mes de enero es decir que arrastraba un evento epidemiológico de brote de dengue desde finales del año 2016, luego este se controló con las acciones de sostenibilidad desde el mes de febrero hasta agosto del 2017, empezando en septiembre con una reactividad de 12,86 % con IC95% (8,09 – 17,62), octubre con 25,99 % con un IC95% (21,73 – 30,24) y noviembre con una reactividad de 23,19 % con un IC95% (18,59 – 27,79), comenzando a disminuir este segundo evento epidemiológico en el mes de diciembre con 9,92 % de reactividad y un IC95% (4,42 – 15,43). La reactividad tiene diferencia significativa entre todos los meses ($p < 0,05$).

La figura 2 indica los resultados de la reactividad por municipios observándose cuatro municipios más afectados con diferencias significativas ($p < 0,05$) entre todos los municipios. Los más afectados son Baragüa con un 20 % y un IC95% (4,33 – 48,01), seguido del municipio Ciego de Ávila con una reactividad de 11,99 % un IC95% (10,58 – 13,41), luego Morón con 11,86 % y un IC95% (9,10 – 14,60), y finalmente Ciro Redondo con 11,11 % y un IC95% (0,28 – 48,25). Es importante destacar que los municipios Chambas, 1^o de Enero, Florencia y Majagua obtuvieron baja

reactividad y no tuvieron transmisión; sin embargo, el municipio de Bolivia con una reactividad de 0 % es uno de los municipios que nunca a tenido transmisión y se comporta este año 2017 igual que en años anteriores porque no existe en su ecología el vector (Guzmán & Kouri, 2002; Valdivia *et al.*, 2006; Avila-Agüero, 2008; Rivera & Rodríguez, 2010).

La figura 3 muestra el comportamiento del suero control interno positivo del ensayo inmunoenzimático UMELISA IgM DENGUE PLUS del cual se puede decir con un nivel de confianza de 95 % que el ensayo estuvo bajo control estadístico y que solamente de las 207 corridas en todo el año ejecutadas, solo 9 estuvieron fuera de los límites de control (9/207) para un 4,35%. Muy por debajo al 20% permisible para verificar que el proceso se encuentra bajo control estadístico (Valdivia *et al.*, 2006).

La figura 4 muestra la repetibilidad del suero control negativo del ensayo, mostrando muy buena repetibilidad y que el proceso esta bajo control estadístico con un nivel de confianza de 95 % y que solamente se observó en las 207 corridas ejecutadas (2/207) para un 1,45 % de puntos fuera de control.

La figura 5 muestra los valores para el cálculos de la concordancia en el programa estadístico EPIDAT que fue del 86,60 % con índice Kappa de 0,72 y un error estándar de 0,03 con IC95% del índice kappa (0,66 – 0,78) y una $p < 0,05$ %. La prevalencia calculada para el ensayo UMELISA IgM DENGUE PLUS fue 10,32 % con IC95% (9,250 – 11,383) es decir 332 muestras reactivas con el ensayo de las 3218 muestras procesadas en el año (Valdivia *et al.*, 2006).

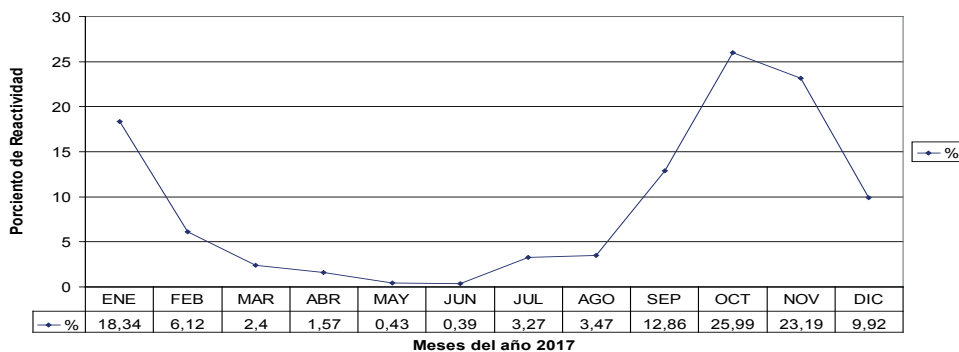


Figura 1. Porcentaje de reactividad con en el ensayo Inmunoenzimático UMELISA IgM DENGUE PLUS de enero a diciembre 2017.

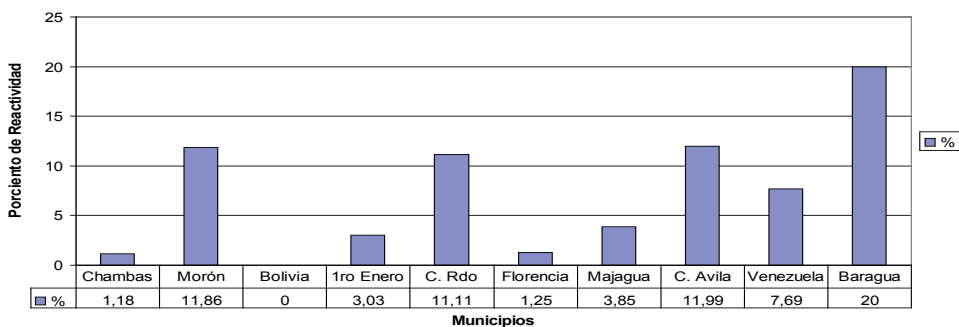


Figura 2. Porcentaje de reactividad con en el ensayo Inmunoenzimático UMELISA IgM DENGUE PLUS por Municipios de la Provincia Ciego de Ávila, Cuba.

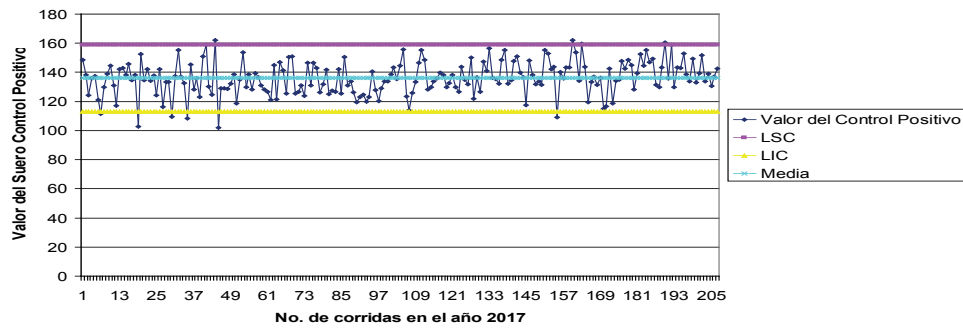


Figura 3. Comportamiento del suero Control Interno Positivo del ensayo Inmunoenzimático UMEELISA IgM DENGUE PLUS.

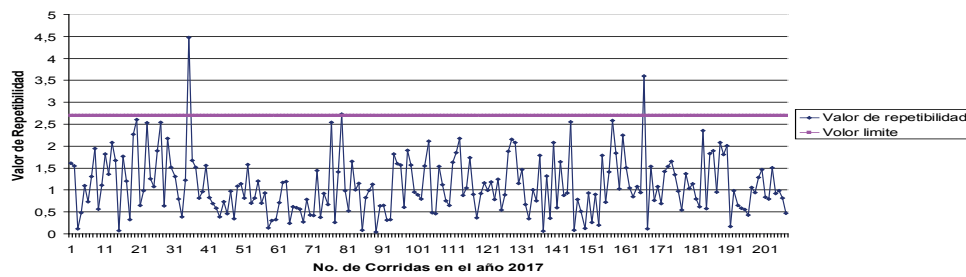


Figura 4. Repetibilidad del suero Control negativo del ensayo Inmunoenzimático UMEELISA IgM DENGUE PLUS.

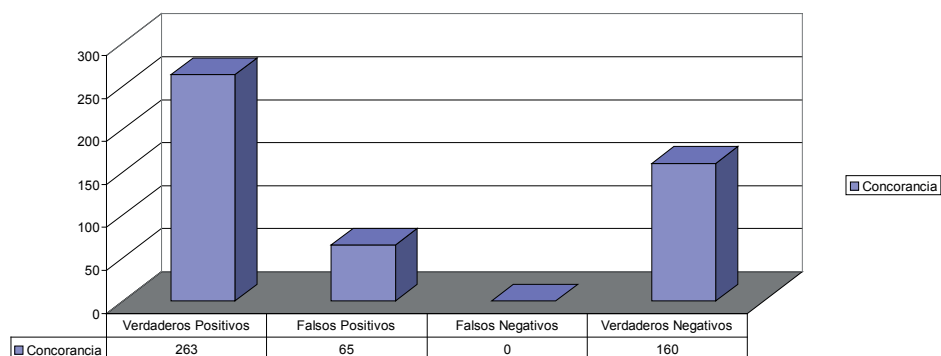


Figura 5. Valores de concordancia entre el ensayo UMEELISA IgM DENGUE Plus y el ensayo ELISA MAC IgM DENGUE.

En conclusión el mes de mayor reactividad en el año 2017 fue octubre con 25,99 % con un IC95% (21,73 -30,24) y las acciones de control comienzan a observarse en el mes de diciembre con un descenso de la reactividad. Los municipios con reactividad más alta fueron Baragúa (20%), Ciego de Ávila (11,99%), Morón (11,86 %) y Ciro Redondo (11,11%). En el municipio de Bolivia no ocurrió transmisión al igual que en años anteriores. Se puede decir que las 207 corridas con el ensayo UMELISA IgM DENGUE PLUS en la valoración del suero control interno positivo y negativo del ensayo estuvieron bajo control estadístico con un nivel de confianza del 95 %. La concordancia entre el ensayo UMELISA IgM DENGUE PLUS y el ensayo ELISA IgM MAC de detección de anticuerpos IgM contra dengue fue de 86,60 %. La prevalencia con el ensayo UMELISA IgM DENGUE PLUS fue de 10,32 %.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcon, S.; Talarmin, A.; Debruyne, M.; Falconar, A.; Deubel, V. & Flamand, M. 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 40:376-381.
- Ávila-Agüero, M.L. 2008. Dengue. *Acta Médica Costarricense*, 50:128-130.
- Bessoff, K.; Phoutrides, E.; Delorey, M.; Acosta, L. & Hunsperger, E. 2010. Utility of a commercial nonstructural protein 1 antigen capture kit as a dengue virus diagnostic tool. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17:949-953.
- Blacksell, S.D.; Doust, J.A.; Newton, P.N.; Peacock, S.J.; Day, N.P.; Dondorp, A.M. 2006. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of rapid immunochromatographic assays for the detection of dengue virus IgM antibodies during acute infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100:775-784.
- Buchy, F.; Yoksan, S.; Peeling, R.W. & Hunsperger, E. 2006. *Laboratory tests for the diagnosis of dengue virus infection*. Geneva, Switzerland: TRD/Scientific Working Group. pp. 74-85.
- Calderón, E.A. & Blanco, L.B. 2007. La enfermedad de dengue en colaboradores cubanos en el estado de Nueva Esparta. Año 2007. *Revista Médica Electrónica* Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242010000300003&lng=es.
- Dussart, P.; Labeau, B.; Lagathu, G.; Louis, P.; Nunes, M.R.; Rodrigues, S.G.; Storck-Herrmann, C.; Cesaire, R.; Morvan, J.; Flamand, M.; Baril, L. 2006. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13:1185-1189.
- Dussart, P.; Petit, L.; Labeau, B.; Bremand, L.; Leduc, A.; Moua, D.; Matheus, S. & Baril, L. 2008. Evaluation of two new commercial tests for the diagnosis of acute dengue virus infection using NS1 antigen detection in human serum. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2:e280.
- Guzmán, M.G. & Kouri, G. 2002. Dengue: an update. *The Lancet Infectious Diseases*, 2: 33-42
- Guzmán, M.G.; Jaenisch, T.; Gaczkowski, R.T.; Hang, V.T.; Sekaran, S.D.; Kroeger, A.; Vazquez, S.; Ruiz, D.; Martinez, E.; Mercado, J.C.; Balmaseda, A.; Harris, E.; Dimano, E.; Leano, P.S.; Yoksan, S.; Villegas, E.; Benduzu, H.; Villalobos, I.; Farrar, J. & Simmons, C.P. 2010. Multi-country evaluation of the sensitivity and specificity of two commercially-available NS1 ELISA assays for dengue diagnosis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 4:e811.
- Hang, V.T.; Nguyet, N.M.; Trung, D.T.; Tricou, V.; Yoksan, S.; Dung, N.M.; Ngoc, T.V.; Hien, T.T.; Farrar, J.; Wills, B. & Simmons, C.P. 2009. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 3:e360.
- Hunsperger, E.A.; Yoksan, S.; Buchy, P.; Nguyen, V.C.; Sekaran, S.D.; Enria, D.A.; Pelegrino, J.L.; Vázquez, S.; Artsob, H.; Drebot, M.; Gubler, D.J.; Halstead, S.B.; Guzmán, M.G.; Margolis, H.S.; Nathanson, C.M.; Rizzo Lic, N.R.; Bessoff, K.E.; Kliks, S. & Peeling, R.W. 2009. Evaluation of commercially available

- anti-dengue virus immunoglobulin M tests. *Emerging infectious diseases*, 15:436-440.
- Jaenisch, T. & Wills, B. 2008. *Results from the DENCO study. TDR/WHO Expert Meeting on Dengue Classification and Case Management. Implications of the DENCO study.* WHO, Geneva, Sep 30-Oct 1/2008. Disponible en: http://www.medicinaysociedad.org.ar/publicaciones/marzo_2010/REC_367_-_Especial_Acciones_desarrolladas_contra_el_Dengue_en_el_IPEM_54_de_Oncativo.pdf
- Kourí, G. 2011. El dengue, un problema creciente de salud en las Américas. *Revista Cubana Salud Pública*, 37 (supl.5): 616-618.
- Libraty, D.H.; Young, P.R.; Pickering, D.; Endy, T.P.; Kalayanarooj, S.; Green, S.; Vaughn, D.W.; Nisalak, A.; Ennis, F.A. & Rothman, A.L. 2002. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. *The Journal of Infectious Diseases*, 186:1165-1168.
- Marco, J. & Cabrera, A. 2006. *Actualización sobre el dengue como enfermedad reemergente, para evitar que sea permanente. Experiencia cubana.* 2006 junio [Consultado: 12 de abril de 2010]. Disponible en: <http://www.portalesmedicos.com>
- Martínez, E. 2009. Medical Care Organization to face Dengue Epidemics. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61: Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602009000200001&lng=es
- Nga, T.T.; Thai, K.T.; Phuong, H.L.; Giao, P.T.; Hung, L.Q.; Binh, T.Q.; Mai, V.T.C.; Nam, N.V. & de Vries, P.J. 2007. Evaluation of two rapid immunochromatographic assays for diagnosis of dengue among Vietnamese febrile patients. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14:799-801.
- Posada, F.P.; Ferrer, M.Y. & Rodríguez, V.I.M. 2010. Caracterización epidemiológica del dengue en Ciego de Ávila. *Mediciego*, 16 (Supl.1): Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol16_supl1_10/pdf/t10.pdf
- Posada, F.P.E.; Retureta, M.M.E.; Rodríguez, V.I.M.; Godoy, M.D. & López, G.G. 2013. Propuesta metodológica para estratificar el riesgo de transmisión de dengue en situaciones de epidemia. *Mediciego*, 19: Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/mediciego/mdc-2013/mdc132g.pdf>
- Rivera, A.H.; Rodríguez, A.P. & Meléndrez, E.H. 2011. Aspectos de importancia clínica del dengue en la comunidad de San Mateo, Anzoátegui, Venezuela (2005-2008). *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 27: 558-565.
- Rivera, A.H. & Rodríguez, A.P. 2010. Estudio seroepidemiológico de infección de dengue en San Mateo, Anzoátegui, Venezuela 2007-2008. *Revista Panamericana de Infectología*, 12:33-38.
- Rivera, A.H.; Rodríguez, A.P. & Meléndrez, E.H. 2012. Espectro clínico del dengue. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 51:61-68.
- Salud, R.; Martínez, A.; Díaz, F.A. & Villa, L.A. 2009. *Evaluación de la definición clínica de dengue sugerida por la Organización Mundial de la Salud.* Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. [Citado: septiembre 2009.] Disponible en: <http://www.ops.org.bo/textocompleto/rib250001.pdf>
- Sandoval, V.J.H.; Amores, R.D.; Ranudo, V.S.; Gutierrez, C.N. & Tirado, G.M.G. 2012. Evaluación del sistema diagnóstico SD DENGUE DUO para la detección de la proteína NS1 y los anticuerpos IgM e IgG anti dengue. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 64:27-34.
- Tricou, V.; Vu, H.T.; Quynh, N.V.; Nguyen, C.V.; Tran, H.T.; Farrar, J.; Wills, B. & Simmons, P.C. 2010. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases*, 10:142.
- Valdivia, I.; Palenzuela, A. & Herrera, R. 2006. *Umelisa dengue plus: una nueva herramienta para el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica comunitaria.* Centro de Inmunoensayo. 2006. Disponible en: <http://www.forumcyt.cu/UserFiles/forum/Textos/0303648.pdf>

- Vázquez, S.; Acosta, N.; Ruiz, D.; Calzada, N.; Alvarez, A.M. & Guzman, M.G. 2009. Immunoglobulin G antibody response in children and adults with acute dengue 3 infection. *The Journal of Virological Methods*, 159:6-9.
- Vázquez, S.; Ruiz, D.; Barrero, R.; Ramírez, R.; Calzada, N.; Del Rosario, Peña, B.; Reyes, S. & Guzmán, M.G. 2010. Kinetics of dengue virus NS1 protein in dengue 4-confirmed adult patients. *Diagnostic Microbiology Infectious Disease*, 68: 46-49.
- Vázquez, S.; Cabezas, S.; Perez, A.B.; Pupo, M.; Ruiz, D.; Calzada, N.; Bernardo, L.; Castro, O.; González, D.; Serrano, T.; Sanchez, A. & Guzmán, M.G. 2007. Kinetics of antibodies in sera, saliva, and urine samples from adult patients with primary or secondary dengue 3 virus infections. *The International Journal of Infectious Diseases*, 11: 256-262.
- Young, P.R.; Hilditch, P.A.; Bletchly, C. & Halloran, W. 2000. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 38:1053-1057.

Received December 17, 2018.

Accepted December 31, 2018.