



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

Utilidad diagnóstica del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de
pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017

TESIS

Para optar el título de Segunda Especialidad Profesional. Especialista en
Análisis Clínicos

AUTOR

Campos Monteza, Christian Junnior

ASESOR

Silva Díaz, Heber

Lambayeque , agosto de 2021

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

**Utilidad diagnóstica del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en
sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017**

Lic. Christian Junnior Campos Monteza

TESIS

**Para optar el título de Segunda Especialidad
Profesional. Especialista en Análisis Clínicos**

APROBADO POR:



Dra. Graciela Olga Albino Cornejo

PRESIDENTA



Dra. Elsa Violeta Angulo de Alva

SECRETARIA



MSc. Roberto Ventura Flores

VOCAL



Dr. Heber Silva Díaz

PATROCINADOR

Dedicatoria

A Dios.

*Por ayudarme a salir adelante a
pesar de mis errores. Y ser un
refugio en los momentos difíciles.*

A mis padres.

*Walter Campos Silva y Teresa Monteza
Alarcón por ser el apoyo constante que
necesita todo hijo para concluir sus
metas.*

A mis hermanos.

*Sara, Cinthya, Jimmy y Kiara por
ser parte imprescindible en mi vida.*

A mis sobrinos

*Aaron Oswaldo Acuña Campos y
Allison Luciana Sánchez Campos el
futuro de la familia.*

A mi abuela

*A mi abuela Manuela Alarcón
Santa Cruz por su cariño y
ejemplo para toda la familia.*

A la memoria.

*De mi tío Wilian Francisco Monteza
Alarcón y mi abuela Sara Silva Yovera*

Agradecimientos

A Dios por ser la guía en cada momento y paso de mi vida.

A la Virgen María que vela por cada uno de sus hijos.

*A mi madre que desde el amanecer hasta el ocaso se preocupa de que nada me falte.
Sin ella no hubiera llegado a nada.*

*Al laboratorio de Investigación del Hospital Regional de Lambayeque que aprobó
el proyecto brindándonos sus instalaciones para realizar la presente investigación.*

Al Doctor Heber Silva Díaz por sus valiosos consejos, aportes y recomendaciones.

*Al Licenciado Franklin R. Aguilar Gamboa por su confianza y ayuda para realizar
esta investigación.*

*A la Doctora Lizzie K. Becerra Gutiérrez quien fue un apoyo en el desarrollo de la
investigación.*

Al distinguido jurado

Dra. Graciela Olga Albino Cornejo

Dra. Elsa Violeta Angulo de Alva.

MSc. Roberto Ventura Flores

*Que con sus observaciones y sugerencias me ayudaron a mejorar y culminar el
presente trabajo.*

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

I.	INTRODUCCIÓN	14
II.	MARCO TEORICO	17
	2.1. Antecedentes	17
	2.1.1. Estudios en dengue	17
	2.1.2 Otros estudios	21
	2.2. Bases teórico – científicas	22
	2.2.1. DENGUE	22
	Definición	22
	Etiología	22
	Diagnóstico laboratorial	22
	2.2.2. MAC ELISA PARA DENGUE	23
	2.2.3. DECLARACIÓN STARD (siglas del inglés <i>Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy</i>)	23
	2.2.4. CONCORDANCIA DIAGNÓSTICA	24
	Índice de kappa	24
	2.2.5. SENSIBILIDAD	25
	2.2.6. ESPECIFICIDAD	26
	2.2.7. CURVAS ROC	26
	2.2.8. AUC (siglas del inglés <i>Area Under Curve</i>)	26
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	27
	3.1. Materiales, equipos y reactivos	27
	3.1.1. Materiales	27
	3.1.2. Reactivos	27
	3.1.3. Equipos	27
	3.2. Diseño de la investigación	27
	3.3. Población y muestra de estudio	27

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	28
3.4.1. Aplicación de la lista STARD	28
3.4.2. Detección de IgM anti Dengue mediante ELISA	29
3.4.2.1. Procedimiento SERION ELISA classic Dengue Virus IgM	29
3.4.2.1.1. Dilución de muestras	29
3.4.2.1.1.1. Interferencia con factores reumatoides (RF)	29
3.4.2.1.2. Procedimiento manual	29
3.4.2.2. Procedimiento Tariki-Dengue IgM	33
3.4.2.2.1. Procedimiento de prueba manual	33
3.4.3. Determinación del Grado de Concordancia	37
3.4.4. Estimación de sensibilidad y especificidad	37
3.4.5. Obtención del punto de corte óptimo para el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM	38
3.5. Procesamiento de los datos	38
3.6. Consideraciones éticas	38
IV. RESULTADOS	40
4.1. Detección de Dengue IgM mediante ELISA	40
4.1.1. Determinación de Dengue IgM por la prueba de referencia Kit Tariki Dengue IgM.	40
4.1.2. Determinación de Dengue IgM por la prueba comercial kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.	41
4.2. Grado de Concordancia del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con el kit de referencia nacional Tariki dengue IgM	43
4.3. Estimación de la sensibilidad y especificidad del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con respecto al kit Tariki Dengue IgM	43

4.4.	Determinación del punto de corte óptimo para el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM	44
V.	DISCUSIÓN	47
VI.	CONCLUSIONES	50
VII.	RECOMENDACIONES	51
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
IX.	ANEXOS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ecuación para estimar el índice de kappa	24
Figura 2. Dilución de muestras por el kit SERION ELISA. a. Adición de 800ul de tampón de diluyente para los 200 ul de factor reumatoide. b. Dilución 1+100 agregando 10ul de muestra para 1000ul tampón de dilución.	31
Figura 3. Adición de muestras (kit SERION Elisa Dengue Virus IgM). a. Bastidor para pocillos. b, c, d y e. Adición de controles y muestras diluidas. f. Incubación de muestras durante 60 minutos a 37°C en cámara de humectación.	32
Figura 4. Lavado de pocillos (kit SERION Elisa Dengue Virus IgM). a. Dispositivo automatizado para lavado de pocillos. b. Verificación de secado mediante golpecitos a la placa de microtitulación sobre toalla de papel.	32
Figura 5. Procedimiento para la detección de IgM anti Dengue mediante el kit SERION ELISA. a y b. Adición de 100 ul de conjugado. c y d. Adición de 100 ul de sustrato. e. Adición de 100 ul de solución de parada a cada pocillo. f. Lectura de extinción de la densidad óptica a una longitud de onda de 650 nm.	33
Figura 6. Procedimiento para la detección de IgM anti Dengue mediante el kit Tariki a. Bastidor para pocillos. b y c. Adición de 100 ul de controles y muestras diluidas d. Incubación de muestras durante 60 minutos a 37°C en cámara de humectación. e y f. Proceso de lavado automatizado de pocillos. g. Preparación de antígeno y conjugado .h. Adición de 100 µl de la solución antígeno-conjugado a cada pocillo.	35
Figura 7. Procedimiento para la detección de IgM anti Dengue mediante el kit Tariki a. Pocillos con mezcla de solución antígeno-conjugado. b y c. Adición de 100 ul de sustrato TMB(cromógeno) a cada pocillo d. Incubación de pocillos con sustrato durante 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. e y f. Adición de 100 µl de solución de parada (ácido sulfúrico 2N) a todos los pocillos.	36

- Figura 8.** Total de resultados positivos y negativos de Dengue IgM determinados por el Kit Tariki Dengue en 118 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017. 40
- Figura 9.** Total de resultados positivos, falsos positivos y negativos de Dengue IgM determinados por el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en 114 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017. 42
- Figura 10.** Gráfico de Curva ROC del test diagnostico SERION ELISA classic Dengue Virus IgM y línea de no discriminación (Línea ND). La flecha indica el punto de corte que determina la sensibilidad y especificidad conjunta más alta. 45
- Figura 11.** Verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN) según concentración de IgM determinado por el test diagnostico SERION ELISA classic Dengue Virus IgM. El cuadro señala el punto de corte óptimo. 46
- Figura 12.** Sensibilidad y especificidad correspondiente a cada concentración de IgM U/ml. Las flechas indican la sensibilidad y especificidad del punto de corte 40,7 U/ml. 46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valoración del Índice Kappa según Landis y Koch.	25
Tabla 2. Calculo del tamaño de muestra para pruebas diagnósticas con una precisión del 5%, nivel de confianza del 95%, frecuencia esperada de sensibilidad 96,2% y 99% de especificidad.	28
Tabla 3. Matriz para la determinación del grado de concordancia entre dos pruebas diagnósticas.	37
Tabla 4. Matriz para la estimación de sensibilidad y especificidad de una prueba diagnóstica.	37
Tabla 5. Campos Índice IgM y grupo para la obtención del punto de corte óptimo del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con datos continuos.	38
Tabla 6. Frecuencia de resultados según rango de absorbancia determinados por el kit Tariki dengue IgM en 114 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.	41
Tabla 7. Frecuencia de resultados según rango de título de anticuerpos IgM U/determinados por el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en 114 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.	42
Tabla 8. Concordancia del Kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM frente al kit Tariki dengue IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.	43
Tabla 9. Clasificación de sanos y enfermos para dengue de acuerdo a resultado determinado por la prueba kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.	44
Tabla 10. Sensibilidad y especificidad del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.	44

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Clasificación científica del virus Dengue	56
Anexo 2. Sueros almacenados en el servicio del Laboratorio Inmunología-Virología del Hospital Regional durante los años 2016 - 2017.	57
Anexo 3. Reactivos del kit Tariki Dengue	58
Anexo 4. Reactivos del kit SERION Elisa Dengue Virus IgM	59
Anexo 5. Ficha de recolección de datos de las muestras procesadas por el kit comercial SERION ELISA Dengue IgM y kit de referencia nacional Tariki Dengue.	60
Anexo 6. Datos ingresados en los campos índice IgM y grupo para la determinación del punto de corte óptimo del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.	66
Anexo 7. Verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos, falsos negativos, sensibilidad y especificidad de los diferentes puntos de corte obtenidos en el análisis de curva ROC del test diagnostico SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.	70

RESUMEN

El diagnóstico de Dengue mayormente empleado en laboratorio es el serológico mediante Elisa de captura IgM, por lo que se utilizan diversas pruebas comerciales, de las que se desconoce la utilidad diagnóstica que puedan presentar con respecto al kit de referencia nacional.

La presente de investigación tuvo como objetivo Evaluar la utilidad diagnóstica del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016 -2017.

En este estudio analítico de corte transversal se analizaron 114 muestras, 57 sueros positivos y 57 negativos determinados por la prueba de Referencia Nacional Tariki dengue empleada como estándar de oro. Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico EPIDAT versión 3.1 y el programa XLSTAT.

La concordancia fue buena según la escala de Landis y Koch, Índice de Kappa de 0,63 entre el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM y kit de referencia nacional Tariki dengue IgM. Alta sensibilidad 100% y baja especificidad de 63,16 % presentó el kit comercial comparado con el kit de referencia nacional. Se obtuvo un punto de corte óptimo adecuado a nuestra población de 40,7 U/ml de DENV IgM para el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

Palabras clave: Dengue, Inmunoglobulina M, Juego de Reactivos para diagnóstico, Perú, Sensibilidad y especificidad, Curva ROC (Fuente: Decs-Bireme).

SUMMARY

The diagnosis of Dengue mostly used in laboratory is the serological by Elisa capture IgM, so various commercial tests are used, the diagnostic usefulness they may present with respect to the national reference kit is unknown.

The purpose of this research was to evaluate the diagnostic usefulness of the SERION ELISA classic Dengue Virus IgM kit in patient sera from the Lambayeque Regional Hospital 2016-2017.

This transverse cutting analytical study analyzed 114 samples, 57 positive serums and 57 negatives determined by the Tariki Dengue National Reference test used as a gold standard. The data were analyzed using the EPIDAT version 3.1 statistical package and the XLSTAT program.

The concordance was good on the Landis and Koch scale, Kappa index of 0.63 between the SERION ELISA classic Dengue Virus IgM commercial kit and Tariki Dengue IgM national reference kit. High sensitivity 100% and low specificity of 63.16% presented the commercial kit compared to the national reference kit. An optimal cut-off point was obtained suitable for our population of 40.7 U/ml of DENV IgM for the SERION ELISA classic Dengue Virus IgM kit.

Keywords: Dengue, Immunoglobulin M, Reagent Kits, Diagnostic, Peru, Sensitivity and specificity, ROC curve (Source: MesH-N&M).

I. INTRODUCCIÓN

El dengue es la arbovirosis más importante debido a la afectación económica, morbilidad y mortalidad que genera a nivel mundial. Es una enfermedad viral, transmitida principalmente por mosquitos hembras de *Aedes aegypti*. (Martínez, 2008; Ministerio de salud, 2011) El dengue es producido por virus estrechamente relacionados, pero antigénicamente distintos. En el Perú, circulan todos estos virus denotados como serotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4. (Guzmán, García y Kouri, 2008; Guzmán y Vásquez, 2002; Ministerio de salud, 2011)

El diagnóstico eficiente del dengue es muy importante para la inmediata atención clínica de los casos graves, confirmación de casos, control de brotes, así como el diagnóstico diferencial con otras etiologías. En este sentido actualmente diferentes métodos son empleados para el diagnóstico del dengue, los cuales se basan principalmente en pruebas moleculares y serológicas, dentro de las últimas podemos detectar la glicoproteína NS1 (producida por todos los flavivirus). Finalmente, las pruebas serológicas son de gran utilidad para el diagnóstico, dentro de las cuales tenemos: Elisa (siglas del inglés *Enzyme Linked-Immunosorbent Assay*) de captura IgM, IgG e IgA, fijación de complemento (FC), Inhibición de la hemaglutinación (HI) y prueba de neutralización (TN). (Cabezas, 2005; Organización panamericana de la salud, 2009) El Elisa de captura IgM es el principal ensayo inmunoenzimático empleado en el diagnóstico rutinario, ya que detecta infección activa o reciente por dengue.

La prueba de procedencia alemana SERION ELISA classic Dengue Virus IgM es un inmunoensayo cuantitativo y cualitativo que cuenta con una buena sensibilidad y especificidad en la detección de anticuerpos humanos, de suero o plasma, dirigidos frente al virus del dengue (DEN 1-4); recomendado para el diagnóstico de infecciones por cualquier serotipo del virus del dengue y para estudios epidemiológicos.

El kit diagnóstico Tariki-Dengue, es una prueba Elisa de captura para la detección de anticuerpos IgM (MAC ELISA) desarrollada por el Instituto nacional de Salud (INS) de Perú en el Laboratorio de referencia Nacional de Metaxénicas Virales. Esta prueba presenta alta sensibilidad y especificidad debido a que

emplea cepas (virus Dengue) nativas. Además, esta prueba tiene un 100% de concordancia con el laboratorio de referencia internacional (CDCUSA, Instituto Pedro Kouri Cuba) (Cabezas et al., 2015). Esta prueba de Elisa es distribuida a 13 regiones del Perú, incluido Lambayeque, pero únicamente a los laboratorios referenciales (DIRESAS).

Los establecimientos de salud son responsables de la operativización del diagnóstico de laboratorio de dengue, encargados de la toma de muestra y envío al laboratorio referencial (Ministerio de salud, 2011). Ciertos establecimientos de salud realizan dicho diagnóstico con el uso de pruebas Elisa comerciales como el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM. Sin embargo, estos no emplean cepas nativas y se desconoce la utilidad diagnóstica que pueden presentar con respecto del kit de referencia nacional.

El Perú es un país endémico de dengue, y en el departamento de Lambayeque suelen ocurrir brotes debido a los cambios climáticos como los ocasionados por el Fenómeno El Niño, habiéndose presentado un total de 1622 casos el año 2017 (Ministerio de Salud, 2017). En el laboratorio de Inmunología- virología del Hospital Regional Lambayeque durante el año 2016 se atendieron 316 pacientes con diagnóstico presuntivo de dengue. Esta cifra aumento en el año 2017 a 895 debido al fenómeno denominado “Niño Costero”.

Como se mencionó antes existe diversos métodos diagnósticos, pero es el diagnóstico serológico el más empleado, particularmente la determinación de la IgM mediante ELISA. Los hospitales determinan este marcador con diferentes kits comerciales con especificidad y sensibilidad variables. La gran demanda presentada requiere que la detección de este marcador tenga un excelente grado de confiabilidad para un diagnóstico oportuno, tratamiento y control.

En este contexto los hospitales necesitan brindar un diagnóstico de laboratorio oportuno para la toma de decisión precoz en el tratamiento e intervenciones de control del dengue, con el mismo nivel de confiabilidad que los centros de referencia. La presente investigación fue realizada para evaluar la utilidad de la prueba diagnóstica MAC ELISA de uso en hospitales como el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

Por lo antes mencionado, el objetivo general planteado en este trabajo fue evaluar la utilidad diagnóstica del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016 -2017 y los objetivos específicos: 1. Determinar el grado de concordancia del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con el kit de referencia nacional Tariki dengue IgM, 2. Estimar la sensibilidad y especificidad del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con respecto al kit Tariki Dengue IgM y 3. Obtener un punto de corte óptimo para el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM adecuándolo a la realidad nacional.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

Se realizó la búsqueda sobre estudios relacionados a la Utilidad diagnóstica del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en los principales buscadores académicos no encontrándose antecedentes utilizando el kit en estudio.

2.1.1 Estudios en dengue

García et al. (2005) realizaron un estudio en el que evaluaron 63 sueros positivos para dengue y 85 negativos, como método de referencia se empleó Elisa IgM de captura con un pool de antígeno de cinco horas de duración; y se analizó también mediante IgM dengue PANBIO y Elisa IgM de captura de dos horas y media de duración. Observaron una buena concordancia de ambos métodos comparados con el de referencia, 96% de concordancia y 0,92 de índice Kappa con el kit PANBIO; y 100 % de concordancia y un índice Kappa de 1,0 por Elisa IgM de menor duración.

Concluyendo que la técnica de menor tiempo Elisa IgM de captura puede ser incorporado en la vigilancia laboratorial de Dengue en el Perú.

Vásquez, Hafner, Ruiz, Calzada y Guzman (2007), analizaron trescientas setenta y tres muestras de suero de población de la Habana (Cuba) en las cuales incluyeron muestras de casos confirmados de dengue (que representan tanto infecciones primarias como secundarias), de enfermedades infecciosas distintas del dengue y de individuos sanos. Se evaluaron dos kits comerciales de diagnóstico de dengue, Panbio Dengue IgM Capture y Dengue IgG Capture Elisa (Brisbane, Australia) los cuales se compararon con ensayos de referencia considerados como el estándar de oro el MAC-ELISA / Dengue IPK para la detección del anticuerpo IgM anti- virus del dengue y método de inhibición Elisa (EIM / Dengue IPK) para diferenciar entre infecciones primarias y secundarias.

Analizando los datos con el programa Epidat versión 2.0 encontraron una alta sensibilidad (96,8%) y especificidad (99,4%) de los diagnósticos

comerciales comparados con los métodos de referencia, así como también una alta concordancia del 95.5% en la clasificación de los tipos de infección por dengue tanto primaria como secundaria.

En la Universidad Nacional de Asunción (UNA) de Paraguay, en el año 2010 con fin de determinar la concordancia entre la prueba local MAC-ELISA con antígenos IPK así como Evandro Chagas y el kit comercial Elisa IgM de captura para dengue, realizaron un estudio observacional-analítico de corte transversal, que captó 92 pacientes. Se tamizó el suero de los pacientes con el kit Focus Diagnostics de procedencia americana (Aria et al., 2010).

Se determinó la concordancia obteniendo índice kappa con el paquete estadístico Epidat 2.0. La prueba desarrollada en el IICS con el antígeno IPK obtuvo 94.6% de concordancia y con Evandro Chagas fue del 96.7%. Obteniendo una concordancia excelente para ambos antígenos según la escala de Landis y Koch (Aria et al., 2010).

Blacksell et al. (2012) evaluaron siete ensayos comerciales: Elisa temprano del virus dengue de Panbio Pan-E NS1, segunda generación (Alere, Australia); Elisa de captura de IgM del virus del dengue Panbio (Alere, Australia); Elisa de captura de IgG del virus del dengue de Panbio (Alere, Australia); Elisa antígeno NS1 del virus dengue de Standard Diagnostics (Standard Diagnostics Inc., Corea del Sur); Elisa IgM para virus dengue de Standard Diagnostics (Standard Diagnostics Inc., Corea del Sur); Elisa IgG para el virus del dengue de Standard Diagnostics (Standard Diagnostics Inc., Corea del Sur); y ELISA antígeno Platelia NS1 (Bio-Rad, Francia).

Emplearon un diseño de casos y controles utilizando muestras de 239 pacientes de Tailandia positivos para dengue y 98 pacientes de Sri Lanka negativos para dengue. Analizaron los datos con el programa Stata/SE 10.0 obteniendo rangos de sensibilidad y especificidad para los Elisa antígeno NS1 de 45 a 57% y 93 a 100% y para los Elisa de detección de anticuerpos IgM rangos entre 85 a 89% y 88 a 100%, respectivamente.

En la Universidad de Ciencias de la Salud – Departamento de Inmunología, Lahore, Pakistán se evaluaron cuatro inmunoensayos basados en Elisa para la detección de anticuerpos IgM contra el virus dengue. Utilizaron 44 sueros positivos para dengue que fueron probadas por diferentes kits de Elisa, obteniendo 37, 29, 27 y 24 muestras positivas por los kits Human, Vircell, DRG y Nova Tech respectivamente (Mumtaz et al., 2013).

El kit DRG se comparó con Human y se encontró que su sensibilidad y acuerdo fue 100% y 46,2%, respectivamente. La sensibilidad y acuerdo de Vircell contra Human fue 89,66% y 18,73% respectivamente. Se obtuvo una sensibilidad de 100% y 37% de acuerdo comparando Nova Tech contra Human. También el Kit Human se comparó con los kits DRG, Nova Tech y Vircell obteniendo 79,97; 64,86; 70,27% de sensibilidad y 46,21; 37; 18,73% de acuerdo, respectivamente. Concluyendo que el Kit Elisa Human es una buena opción para el diagnóstico de la fiebre del dengue (Mumtaz et al., 2013).

Namekar et al. (2013) evaluaron Elisa InBios dengue virus (DENV) IgM de captura para la detección cualitativa de anticuerpos anti- DENV IgM utilizando 79 muestras clínicas de suero recolectadas de Hawái, Vietnam, Niue, Singapur y Samoa Americana. Realizaron el análisis de datos con el software Microsoft Excel y SAS Los resultados encontrados de acuerdo, sensibilidad, y especificidad del ensayo InBios comparado con el patrón de oro interno Elisa DENV IgM de captura fueron 94, 92, y 94%, respectivamente. Concluyeron que el ensayo Elisa InBios DENV IgM de captura puede ser efectivamente usado para un rápido diagnóstico de infección aguda o reciente de DENV.

Welch et al. (2014) compararon el ensayo comercial Elisa InBios DENV IgM de captura con el test Focus Reducción de microneutralización de antígeno (FR μ NT₉₀) y los centros para el control de enfermedades Dengue IgM Capture-Elisa (CDC MAC-ELISA). Utilizaron 212 muestras de suero de pacientes de Salt Lake City, UT (EE. UU). Analizaron los datos con el programa Yates corrected Chi-square test.

Calcularon la sensibilidad, especificidad y acuerdo del Inbios Elisa comparado con FR μ NT₉₀ y CDC MAC ELISA y obtuvieron 88, 7%(I.C 81,4-93,7), 93, 1%(I.C 89,1-95,8) y 91. 5%(I.C 86,3-95,0), respectivamente. Concluyeron que la sensibilidad y especificidad del ELISA Dengue IgM Inbios es comparable a otros Elis as IgM de capturas comerciales disponibles en el mercado.

De Decker et al. (2015) evaluaron la precisión diagnóstica de un nuevo ensayo de captura de IgA del dengue (Platelia Dengue IgA Capture, Bio- Rad) para la detección de la infección por dengue. Seleccionaron un total de 184 muestras de los cuales 134 estaban infectados con dengue. Este estudio reveló una buena sensibilidad general y especificidad de la prueba del índice de IgA, 93% y 88% respectivamente, lo que indico una buena correlación con el diagnóstico de dengue agudo; y una buena concordancia con el Elisa de captura de Panbio IgM de con un coeficiente kappa casi perfecto, igual a 0,8632.

Gaikwad, Sawant y Shastri (2017) llevaron a cabo un estudio de laboratorio prospectivo en 200 muestras de suero de casos clínicamente sospechosos de dengue. Las muestras de suero se sometieron a la prueba de detección de antígeno NS1 mediante prueba rápida, NS1, Elisa y RT-PCR. Los resultados de las pruebas rápidas y de Elisa se compararon con la PCR en tiempo real, obteniendo una concordancia del 75,5% y 94% con Rapid NS1 y NS1 ELISA respectivamente.

Lu et al. (2019) compararon dos kits comerciales Elisa IgM de captura: Panbio kit, Alere, Waltham, MA, EE.UU. y kit Inbios, Inbios International, Inc., Seattle, WA, EE.UU.). Ensayaron dos paneles de muestra de sangre pareada. Panel A compuesto de 54 pacientes con dengue confirmado por RT-PCR y 11 pacientes confirmadas por PCR para otras enfermedades no dengue. El panel B incluyó 74 pacientes seleccionados al azar de pacientes

consecutivos ingresados al hospital Mahosot (Laos) en 2008 con sospecha de fiebre del dengue.

Analizaron los datos con el programa RStudio Software versión 1.0.136-C 2009-2016. Determinaron con las muestras del panel A la sensibilidad y especificidad para el kit Panbio y kit Inbios de 87% y 72.7%, 72.2% y 100%, respectivamente. Con las muestras del panel B hallaron una concordancia moderada ($Kappa = 0.5$) al comparar las pruebas.

2.1.2 Otros estudios

En la paz – Bolivia dentro de un estudio de evaluación de la sensibilidad y especificidad de dos métodos inmunoenzimáticos (quimioluminiscencia y Elisa) frente al estudio histopatológico, en la determinación del antígeno prostático específico, en pacientes de la caja petrolera de salud en el periodo octubre-mayo 2007-2008.

Lograron determinar la concordancia entre los métodos de quimioluminiscencia y enzimo-inmunoensayo, utilizando el modelo Kappa, obteniendo una concordancia en los resultados de los métodos de quimioluminiscencia frente al enzimo-inmunoensayo de 0.41 moderada, quimioluminiscencia frente al estudio histopatológico, 0.91 muy buena y del enzimo-inmunoensayo frente al estudio histopatológico (Gold estándar), 0.33 regular. (Colque,2010)

Aria et al. (2016) con el objetivo de evaluar el desempeño del Elisa Chagas test IICS V.1, realizaron una comparación de este último con kits comerciales. Efectuaron un estudio observacional de prueba diagnóstica donde analizaron 56 muestras de sueros positivos y negativos para antígenos de *Trypanosoma cruzi*, testados por el Elisa BiosChile, obtuvieron una concordancia excelente entre el Elisa Chagas test IICS V.1y los kits comerciales: Chagatest Elisa-Wiener, con Índice kappa: 0,89 IC de 95% (0,76-1) y Test Elisa para Chagas III-Grupo BiosChile con Índice kappa: 0,92 IC 95% (0,82-1).

2.2 Bases teórico – científicas

2.2.1 DENGUE

Definición

El dengue es la arbovirosis más importante que afecta al ser humano debido a su elevada afectación económica, morbilidad y mortalidad que genera a nivel mundial. Es una enfermedad viral, transmitida principalmente por mosquitos hembras de *Aedes aegypti*, que tiene diversas formas de expresión clínica desde fiebre indiferenciada hasta formas graves con choque hipovolémico, trombocitopenia y grandes hemorragias, así como formas atípicas (Martínez, 2008; Ministerio de salud, 2011).

Etiología

El complejo dengue lo constituyen los serotipos virales (Dengue 1, 2, 3 y 4) serológicamente diferenciables, estos comparten analogías estructurales y patogénicas. Adicionalmente a los cuatro serotipos se debe considerar el serotipo DENV-5 hallado en un paciente de Tailandia que curso con cuadro clínico grave (Mamani, 2014) (anexo 1).

Diagnóstico laboratorio

La infección por dengue puede ser diagnosticada directamente detectando la presencia del virus. La detección del genoma y el aislamiento viral son el Gold standard (Díaz, Martínez, Ocazonez, Villar, 2006); entre estas tenemos las técnicas de cultivo celular para el aislamiento del virus en que se utilizan diferentes líneas celulares como C6/36 ó AP61.

Las técnicas como la RT-PCR (siglas del inglés *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) ofrecen una muy buena sensibilidad en un tiempo corto, recientemente las pruebas de RT-PCR en tiempo real permiten detectar y cuantificar el ácido nucleico viral presentes en suero, la prueba de NASBA (siglas del inglés *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification*) es un ensayo de amplificación isotérmica que también detecta ácido nucleico y es específica del ARN.

La detección de antígeno permite un diagnóstico temprano de infección, por lo que existen muchos métodos para la detección de la glucoproteína NS1 (producida por todos los flavivirus), tales como los ensayos de Elisa, anticuerpos fluorescentes, inmunoperoxidasa y de la enzima avidina-biotina.

Finalmente, las pruebas serológicas son de gran utilidad para el diagnóstico dentro de las cuales tenemos los Elisa de captura IgM, IgG e IgA, Inhibición de la hemaglutinación (IH), fijación de complemento (FC) y prueba de neutralización (PN) (Guzmán et al., 2008; Cabezas et al., 2015). Las pruebas de diagnóstico deben aplicarse según el tiempo de enfermedad, así el aislamiento viral, la detección de RNA por PCR y la detección de antígenos pueden hacerse en los primeros cinco días, y a partir del quinto día en promedio el uso de pruebas para la detección de anticuerpos IgM. En infección secundaria los anticuerpos IgG aparecen junto a los anticuerpos IgM y persisten indefinidamente (Martínez, 2008).

2.2.2 MAC – ELISA PARA DENGUE

La IgM total en sueros de pacientes se captura a través de anticuerpos específicos para la cadena IgM humana revestidos en un microplato. Los antígenos específicos de los diferentes serotipos de dengue serán ligados a los anticuerpos IgM anti-dengue capturados y estos detectados por anticuerpos policlonales o monoclonales del dengue, conjugados con una enzima que transforma un sustrato incoloro en productos coloreados. La densidad óptica se mide mediante un espectrofotómetro. Tiene buena especificidad y sensibilidad cuando se usa en cinco o más días después de la aparición de la fiebre. (Organización panamericana de la salud, 2009).

2.2.3 DECLARACIÓN STARD (siglas del inglés *Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy*).

La escala STARD se utiliza para valorar la precisión diagnóstica, es decir, para discernir la capacidad de una prueba de diferenciar entre pacientes que tienen la enfermedad de los que no la tienen. STARD tiene como objetivo el proporcionar una lista que sirva de guía para la publicación de estudios de precisión de pruebas diagnósticas. Es una herramienta que se utiliza en

forma prospectiva para realizar un diseño adecuado de un estudio; por tanto, interesan a los investigadores en la fase de diseño del estudio y a los editores (Gonzales y Velarde, 2012).

2.2.4 CONCORDANCIA DIAGNÓSTICA

El término concordancia hace referencia a que hay correspondencia o conformidad de una cosa respecto a otra. Su importancia en el área de la salud reside en que existen diversas maneras de valorar los fenómenos de la naturaleza y por lo tanto aparecen distintas aproximaciones o métodos diagnósticos usados para medir los mismos fenómenos o enfermedades.

La concordancia adquiere importancia cuando se desea conocer si con un método o instrumento nuevo, diferente al habitual, se obtienen resultados equivalentes de tal manera que eventualmente uno y otro puedan ser remplazados o intercambiados ya sea porque uno de ellos es más sencillo, menos costoso y por lo tanto más costo-efectivo, o porque uno de ellos resulta más seguro para el paciente, entre otras múltiples razones.

En términos generales, la concordancia es el “grado en que dos o más observadores, métodos, técnicas u observaciones están de acuerdo sobre el mismo fenómeno observado” (Reyes, Rubio y Gaitán, 2010).

Índice de Kappa

“Instrumento diseñado por Cohen que ajusta el efecto del azar en la proporción de la concordancia observada”. La estimación por el índice de Kappa sigue una ecuación (figura 1).

$$\text{Kappa} = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

Figura 1. Ecuación para estimar el índice de kappa. Fuente: Tomado de (Reyes, et al, 2010)

Donde P_0 es la proporción de concordancia observada, P_e es la proporción de concordancia esperada por azar y $1 - P_e$, representa el acuerdo o concordancia máxima posible no debida al azar. El índice de Kappa corrige el acuerdo sólo por azar, en tanto es la proporción del acuerdo observado que excede la proporción por azar. Si este valor es igual a 1, estaríamos frente a una situación en que la concordancia es perfecta (100% de acuerdo o total acuerdo) y por tanto, la proporción por azar es cero; cuando el valor es 0, hay total desacuerdo y entonces la proporción esperada por azar se hace igual a la proporción observada.

De otro lado, Landis y Koch propusieron una interpretación cualitativa del índice de Kappa utilizada clásicamente (tabla 1).

Tabla 1. Valoración del Índice Kappa según Landis y Koch.

Valor de k	Fuerza de concordancia
<0,20	Pobre
0,21 – 0,40	Débil
0,41 – 0,60	Moderada
0,61 – 0,80	Buena
0,81 – 1,00	Muy buena

Fuente: Tomado de (Reyes, et al, 2010)

Tales rangos no consideran las características propias de cada uno de los fenómenos que se intentan medir ni la relevancia clínica que, en un momento dado, puedan adquirir las diferencias o similitudes encontradas, que son dependientes de la entidad o el fenómeno a medir (Reyes et al., 2010).

2.2.5 SENSIBILIDAD

La sensibilidad de una prueba o de un método es la capacidad para diagnosticar como positivo a un enfermo. Es decir, es la capacidad de catalogar a un paciente enfermo como tal, cuando realmente lo está (Colque, 2010).

2.2.6 ESPECIFICIDAD

La especificidad es la capacidad del método para diagnosticar a un paciente como negativo cuando está sano; es decir, es la capacidad de catalogar al paciente como sano cuando realmente lo es (Colque, 2010).

2.2.7 CURVAS ROC

El análisis en base a curvas ROC (siglas del inglés *Receiver Operating Characteristic Curve*) establece un método estadístico que determina la exactitud diagnóstica de test que emplean escalas continuas, siendo utilizadas con tres propósitos específicos: determinar el punto de corte donde se alcanza la más alta sensibilidad y especificidad, valorar la capacidad discriminativa del test diagnóstico, es decir, su capacidad de diferenciar sujetos sanos versus enfermos, y contrastar la capacidad discriminativa de dos o más test diagnósticos que expresan sus resultados como escalas continuas (Cerdeira y Sifuentes, 2012).

2.2.8 AUC (siglas del inglés *Area Under Curve*)

Medida única e independiente de la prevalencia de la enfermedad en estudio. El AUC refleja qué tan bueno es un test para discriminar pacientes con o sin la enfermedad a lo largo de todo el rango de puntos de corte posibles (Cerdeira y Sifuentes, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Inmunología-Virología experimental de la Dirección de Investigación del Hospital Regional Lambayeque.

3.1. Materiales, equipos y reactivos

3.1.1 Materiales

Micropipeta BOECO Germany de 10 – 100 µL.

Micropipeta BOECO Germany de 100-1000 µL.

Micropipeta BOECO Germany de 10 µL.

Tips estériles de 1000 µL ,100 µL y 10 µL.

Crioviales tapa presión.

Guantes quirúrgicos N° 8.

Gorro de laboratorio.

Respirador.

Bata de laboratorio.

3.1.2 Reactivos

Kit ELISA Tariki Dengue IgM.

Kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

3.1.3 Equipos

Espectrofotómetro Thermo scientific.

Lavador de Elisa Robonik.

Incubadora Memert.

3.2. Diseño de la investigación

El presente trabajo desarrollo el diseño de prueba diagnóstica. El tipo de investigación fue analítico de corte transversal.

3.3. Población y muestra de estudio

La población estuvo comprendida por sueros de pacientes con solicitud de diagnóstico de dengue, almacenados en el servicio del Laboratorio Inmunología-Virología del Hospital Regional Lambayeque durante los años

2016 - 2017(anexo 2). Dichos sueros estuvieron almacenados a temperatura de -70 °C.

El tamaño de la muestra requerido para pruebas diagnósticas se obtuvo con el programa Epidat 3.1. (tabla 2). La frecuencia esperada de sensibilidad fue de 96.2% y la especificidad 99%(Datos estimados por el fabricante del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM). Se trabajó con un nivel de confianza de 95 % y una precisión de 5 % por lo que se requirió 57 sueros positivos y 57 negativos los cuales fueron determinados por la prueba de referencia kit Tariki Dengue IgM.

Tabla 2. Calculo del tamaño de muestra para pruebas diagnósticas con una precisión del 5%, nivel de confianza del 95%, frecuencia esperada de sensibilidad 96.2% y especificidad de 99%.

Sensibilidad: 96.200%			
Especificidad: 99.000%			
Razón no enfermos/enfermos: 1.000			
Nivel de confianza: 95.0%			
Precisión (%)	Enfermos	Sanos	Total
-----	-----	-----	-----
5.000	57	57	114

Técnica de muestreo

Se utilizó el muestreo no probabilístico: Accidental o consecutivo el cual se fundamentó en reclutar casos hasta que se completó el número de muestras (sueros) necesario para completar el tamaño de muestra deseado.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1 Aplicación de la lista STARD

El estudio en medida que fue posible siguió las recomendaciones de la lista STARD (Gonzales y Velarde, 2012).

3.4.2 Detección de IgM anti Dengue mediante ELISA

Se procesó los sueros de pacientes con solicitud de diagnóstico de dengue mediante los kits anti Dengue ELISA (Tariki dengue y SERION ELISA classic) (anexo 3 y 4).

A las muestras de sueros de les designo un número de acuerdo al código registrado en el laboratorio de Inmunología – Virología empezando a enumerar desde el código más antiguo (anexo 5).

3.4.2.1. Procedimiento SERION ELISA classic Dengue Virus IgM

3.4.2.1.1 Dilución de muestras

3.4.2.1.1.1 Interferencia con factores reumatoides (RF)

La absorción de los factores reumatoides se realizó mediante incubación de la muestra del paciente en la solución absorbente de RF durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Antes de realizar la prueba, el absorbente del factor reumatoide se diluyo 1+4 en tampón diluyente agregando 200 µl de absorbente de Rf para 800 µl de tampón diluyente (figura 6: a). Las muestras se diluyeron en el tampón de dilución 1+100 agregando 10 µl de muestra para 1000 µl tampón de dilución (figura 6: b).

Después de la dilución y antes de pipetear en la placa de microtitulación, las muestras se mezclaron a fondo obteniendo una solución homogénea.

3.4.2.1.2 Procedimiento manual

1. Se colocó el número necesario de pocillos en el bastidor y se preparó la hoja de protocolo (figura7: a).
2. Se añadió 100 µl de muestra diluida o controles listos para usar en los pocillos apropiados. Se reservó un pocillo para el blanco del sustrato (figura7: b, c, d y e).
3. Se incubo la muestra durante 60 minutos a 37 ° C en la cámara de humectación (figura 7: f).

4. Se lavó todos los pocillos con solución de lavado mediante dispositivo automatizado (figura 8: a y b).

- Se aspiró la solución de incubación
- Se llenó cada pocillo con 300 μ l de solución de lavado
- Se aspiró la solución amortiguadora de lavado
- Se repitió el procedimiento de lavado 3 veces (en total 4 veces)
- Se secó dando ligeros golpecitos a la placa de microtitulación sobre una toallita de papel

5. Se añadió 100 μ l del conjugado listo para usar IgM a los pocillos (excepto el blanco) (figura 9: a y b).

6. Se incubó el conjugado durante 30 minutos a 37 °C en la cámara de humectación.

7. Se lavó todos los pocillos con solución de lavado (paso 4).

8. Se añadió 100 μ l de solución de sustrato a cada pocillo (incluido el blanco) (figura 9: c y d).

9. Se incubó el sustrato durante 30 minutos a 37 ° C en la cámara de humectación.

10. Se agregó 100 μ l de solución stop a cada pocillo. Se agitó ligeramente la placa para mezclar (figura 9: e).

11. **Lectura de la extinción.** Se leyó la densidad óptica (OD) antes de los 60 minutos a 405 nm frente al sustrato blanco, longitud de onda de referencia entre 620 nm y 690 nm (figura 9: f).

Evaluación automatizada/Software

Se evaluó de manera automatizada las señales de medición ópticas con ayuda de la herramienta de software basado en Microsoft® Excel, SERION activity.

Criterios de validez

El blanco de sustrato fue <0.25 OD.

El control negativo produjo un resultado negativo.

Mediante el uso de pruebas cuantitativas SERION ELISA classic, el valor de DO medio del suero patrón estuvo dentro del intervalo de validez del lote del kit.

La variación de valores DO del suero patrón no fueron superiores al 20%.

Cuando no se cumplieron los criterios, se consideraron pruebas no válidas y se repitió el proceso.

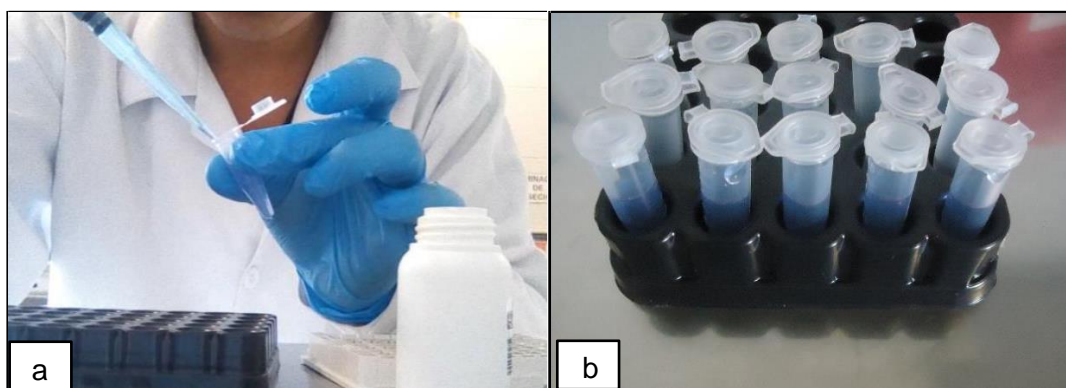


Figura 2. Dilución de muestras por el kit SERION ELISA. a. Adición de 800ul de tampón de diluyente para los 200 ul de factor reumatoide. b. Dilución 1+100 agregando 10ul de muestra para 1000ul tampón de dilución.

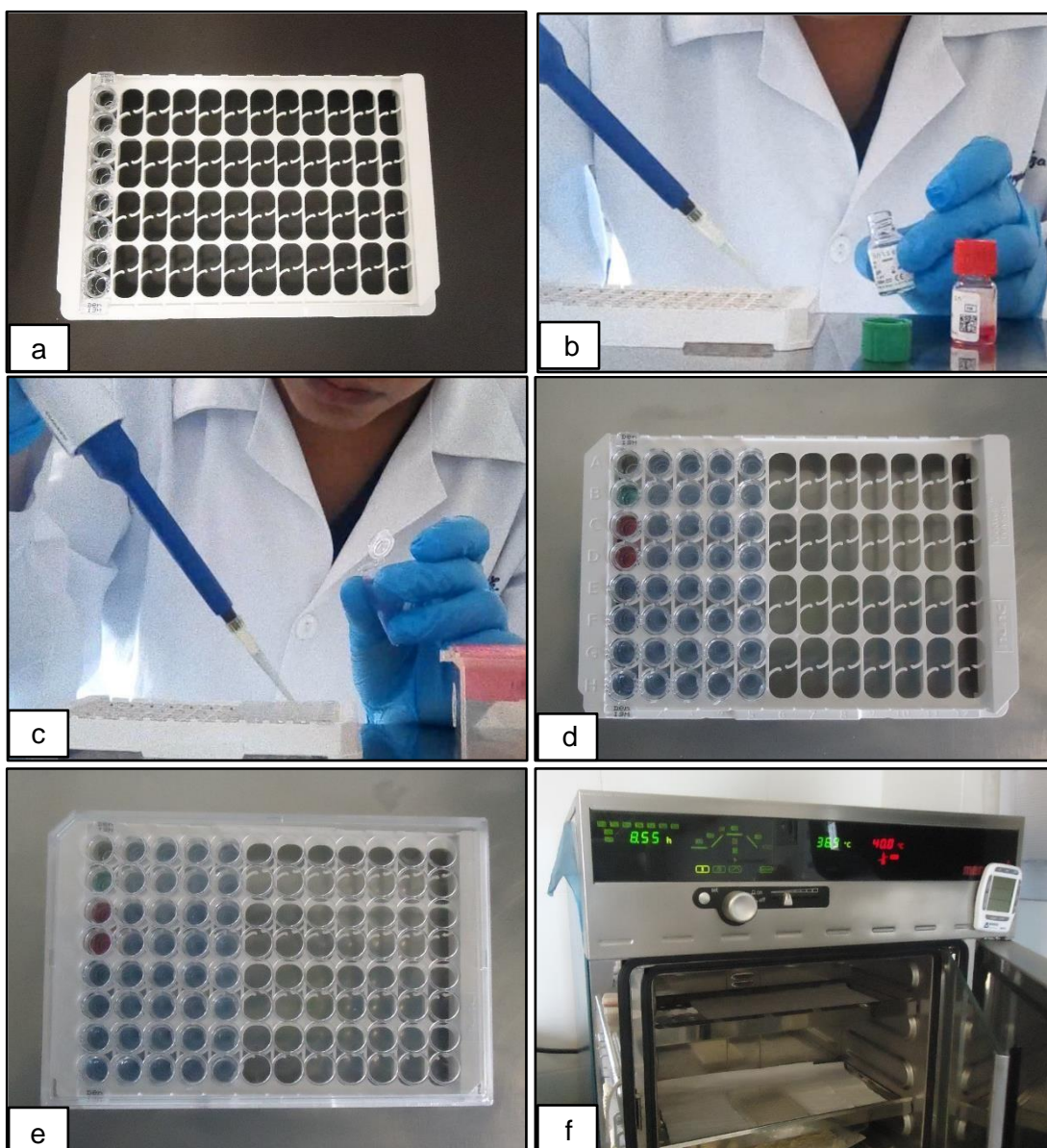


Figura 3. Adición de muestras (kit SERION Elisa Dengue Virus IgM). a. Bastidor para pocillos. b, c, d y e. Adición de controles y muestras diluidas. f. Incubación de muestras durante 60 minutos a 37°C en cámara de humectación.

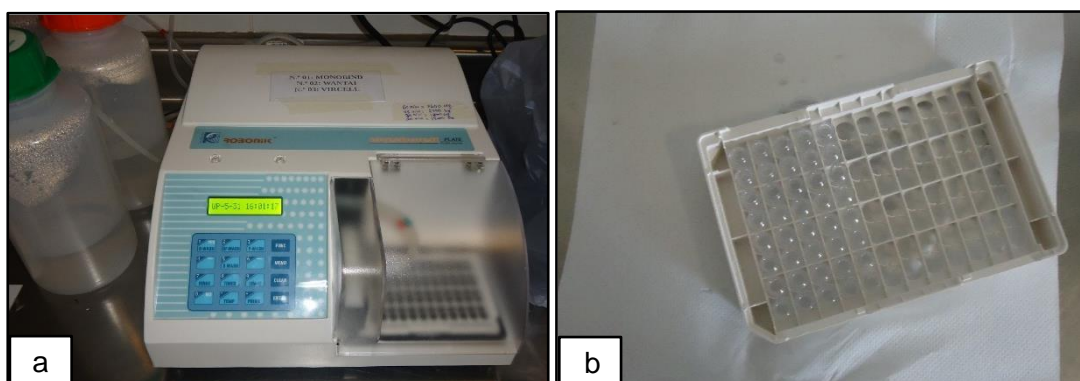


Figura 4. Lavado de pocillos (kit SERION Elisa Dengue Virus IgM). a. Dispositivo automatizado para lavado de pocillos. b. Verificación de secado mediante golpecitos a la placa de microtitulación sobre toalla de papel.

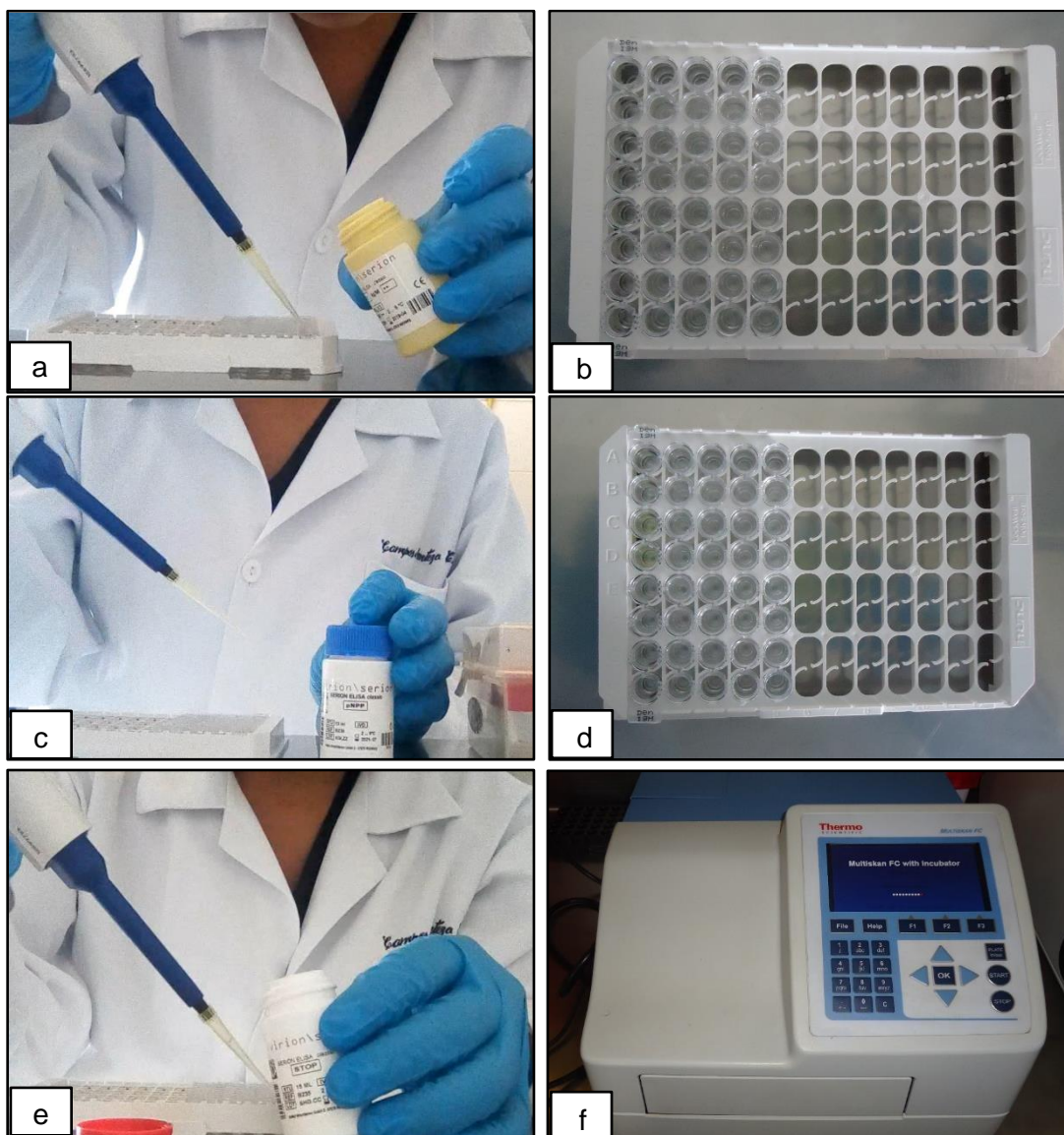


Figura 5. Procedimiento para la detección de IgM anti Dengue mediante el kit SERION ELISA. a y b. Adición de 100 μ l de conjugado. c y d. Adición de 100 μ l de sustrato. e. Adición de 100 μ l de solución de parada a cada pocillo. f. Lectura de extinción de la densidad óptica a una longitud de onda de 405 nm.

3.4.2.2 Procedimiento Tariki-Dengue IgM

3.4.2.2.1 Procedimiento de prueba manual

1. Se extrajo el número necesario de pocillos de la bolsa de aluminio (figura 10: a). Se necesitó 3 pocillos para el control negativo (CM-) y 1 control positivo (CM+). Los pocillos no usados se guardaron en la bolsa de aluminio bien sellada.
2. Muestra problema: Se agregó a los pocillos 100 μ l de los sueros problemas, suero control positivo y suero control negativo diluidos a 1/40

(234 μ l de buffer diluyente y 6 μ l de sueros controles y sueros problemas) (figura 10: b y c). Se mezcló bien. Se incubó a 37° por 1 hora (figura 10: d).

3. Simultáneamente se preparó mezcla de antígeno y conjugado. (figura 10: g) Se preparó el antígeno teniendo en cuenta el volumen requerido para la prueba. Luego se preparó el conjugado teniendo en cuenta el volumen requerido para la prueba.

4. Luego en un tubo se hizo una mezcla con igual volumen de solución antígeno e igual volumen de solución de conjugado.

5. Luego de la hora de incubación de la placa, se lavó 5 veces (250-300 μ l por pocillo) con el buffer de lavado (figura 10: e y f).

6. Se agregó 100 μ l de la mezcla de solución antígeno-conjugado a cada pocillo (Figura 10: h, 11: a). Luego se incubó a 37°C por 1 hora.

7. Se lavó por 5 veces (250-300 μ l por pocillo) con el buffer de lavado.

8. Se agregó 100 μ l de Sustrato TMB (cromógeno) a cada pocillo de trabajo. (figura 11: b y c). Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad (figura 11: d). Hasta que apareció un color azul.

9. Se adiciono 100 μ l de solución de parada (ácido sulfúrico 2N) en todos los pocillos en el mismo orden y con los mismos intervalos de tiempo. El color azul cambio a amarillo (figura 11: e y f).

10. **LECTURA:** Se hizo la lectura con filtros de 450nm (filtro de referencia).

Criterios de validez

La absorbancia media de los controles negativos fue menor a 0.20.

El control positivo estuvo en un rango de 1.0 a 2.0

El valor de corte fue < 0.30

Se consideró como indeterminado muestras con densidad óptica (DO) cercanas al valor de corte obtenido ± 0.020

Cuando el resultado estuvo fuera del parámetro establecido se repitió la prueba.

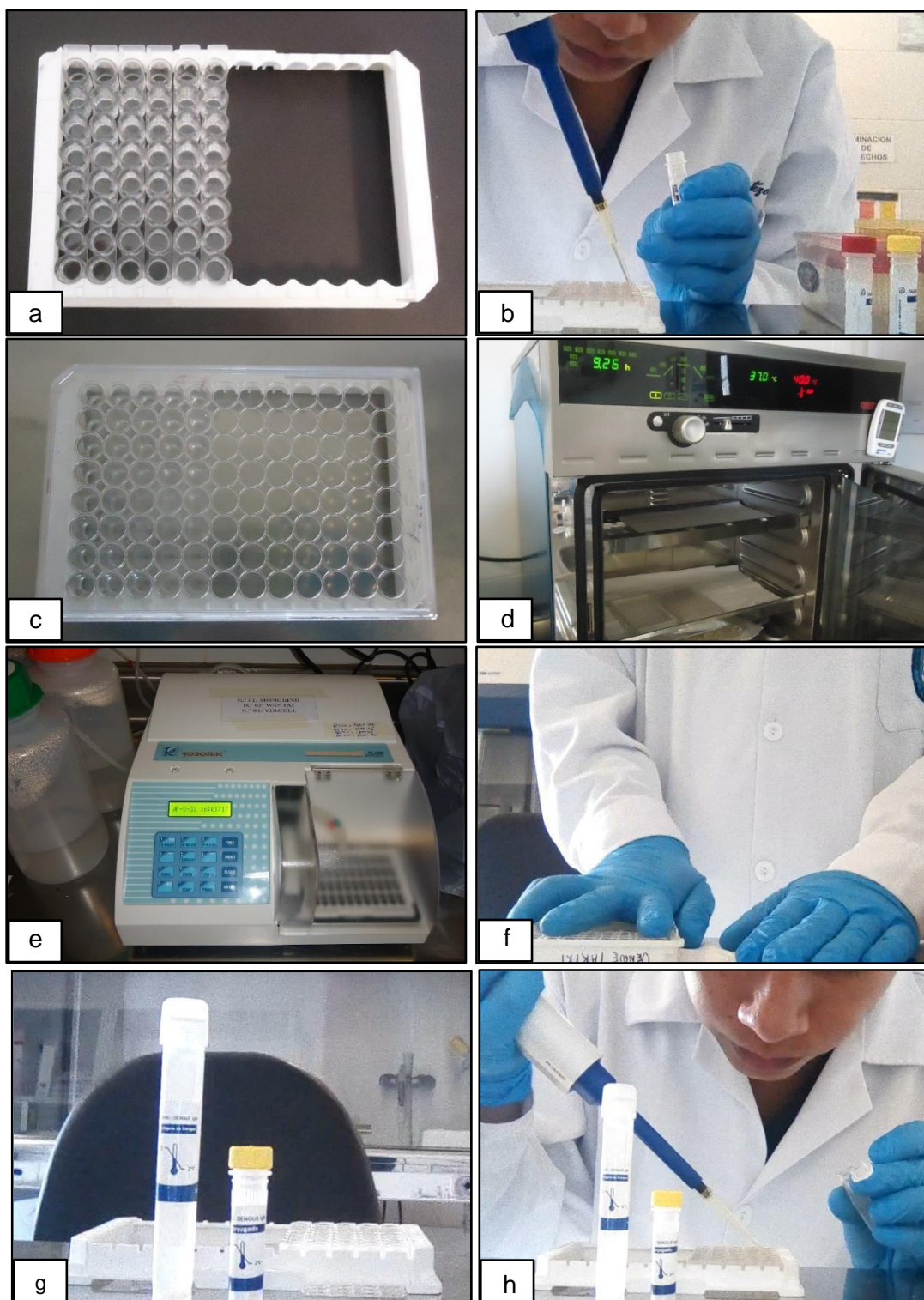


Figura 6. Procedimiento para la detección de IgM anti Dengue mediante el kit Tariki a. Bastidor para pocillos. b y c. Adición de 100 μ l de controles y muestras diluidas d. Incubación de muestras durante 60 minutos a 37°C en cámara de humectación. e y f. Proceso de lavado automatizado de pocillos. g. Preparación de antígeno y conjugado. h. Adición de 100 μ l de la solución antígeno-conjugado a cada pocillo.

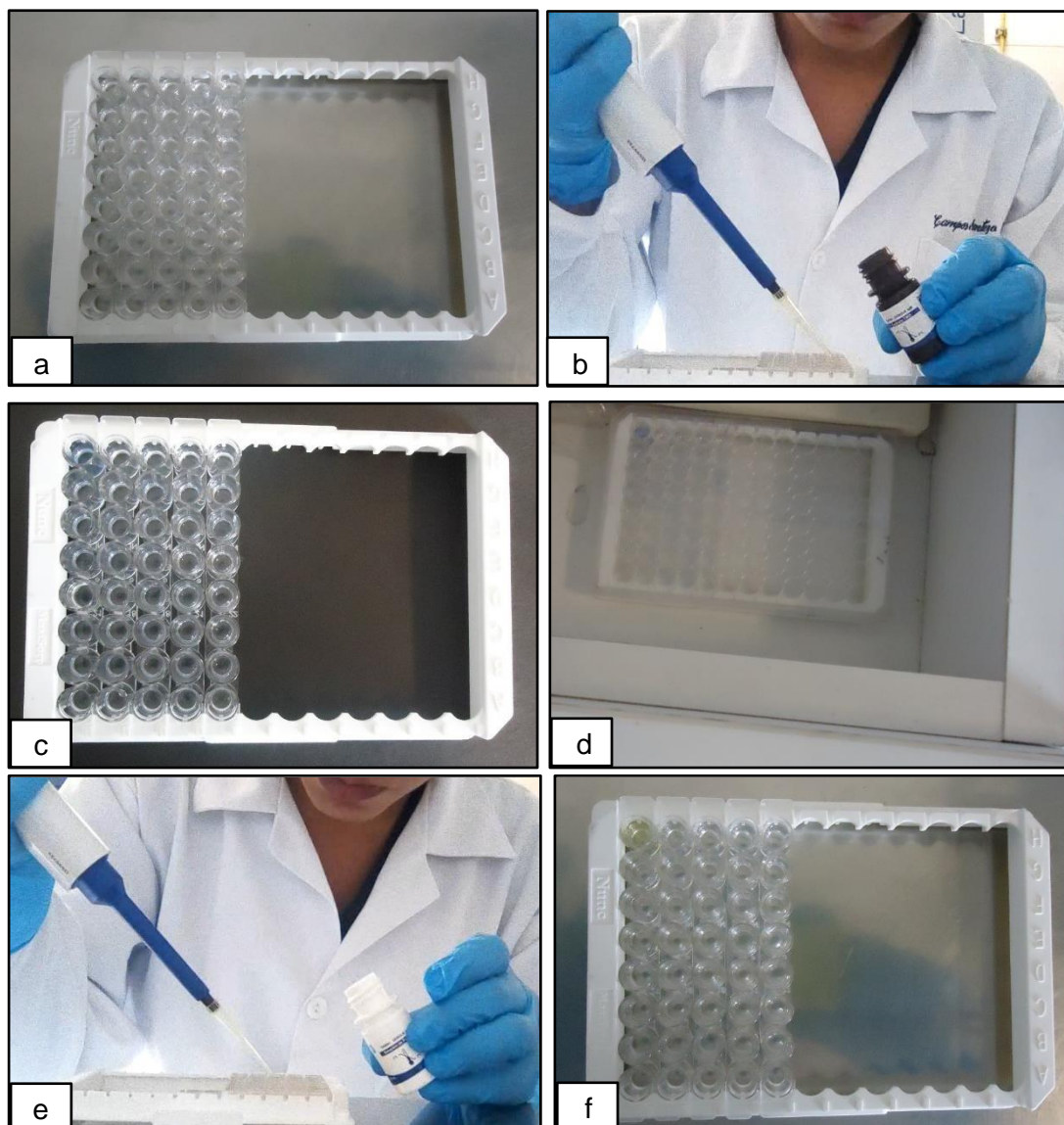


Figura 7. Procedimiento para la detección de IgM anti Dengue mediante el kit Tariqi a. Pocillos con mezcla de solución antígeno-conjugado. b y c. Adición de 100 µl de sustrato TMB(cromógeno) a cada pocillo d. Incubación de pocillos con sustrato durante 30 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. e y f. Adición de 100 µl de solución de parada (ácido sulfúrico 2N) a todos los pocillos.

3.4.3 Determinación del Grado de Concordancia

Para determinar la concordancia entre los kits de ELISA se utilizó el modelo Kappa, para cuyo efecto se recopiló los resultados obtenidos mediante ambos kits ELISA en la siguiente matriz y se aplicó la fórmula (tabla 3). Los resultados indeterminados se calificaron como negativos.

Tabla 3. Matriz para la determinación del grado de concordancia entre dos pruebas diagnósticas

Método A	Método B		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	a	c	f1
Negativo	c	d	f2
Total	c1	c2	n

Índice kappa:

$$K = (x - q) / (N - q)$$

$$q = [(c1) (f1) + (c2) (f2)] / n$$

$$x = a + d$$

3.4.4 Estimación de sensibilidad y especificidad

Para determinar la sensibilidad y especificidad del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM se recopiló los resultados obtenidos mediante ambos kits ELISA en la siguiente matriz y se aplicó la fórmula (tabla 4).

Tabla 4. Matriz para la estimación de sensibilidad y especificidad de una prueba diagnóstica

Prueba diagnóstica	Prueba de referencia		
	Positivos	Negativos	Total
Positivos	VP	FP	VP + FP
Negativos	FN	VN	FN + VN
Total	VP + FN	FP + VN	N = VP+FN+FP+VN

VP= Verdaderos positivos

FP= Falsos positivos

FN= Falsos negativos

Sensibilidad=VP/ (VP+FN)

Especificidad=VN/ (VN+FP)

VN= Verdaderos negativos

3.4.5 Obtención del punto de corte óptimo para el Kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

Los sueros se consideraron verdaderamente positivos o negativos en la determinación de IgM de acuerdo a los resultados obtenidos por el método de referencia kit ELISA Tariki Dengue IgM. Se utilizó los resultados obtenidos mediante ambos kits Elisa.

Para la obtención del punto de corte óptimo del kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM se utilizó la curva ROC creando 2 campos: Índice y grupo (tabla 5). El grupo indico la enfermedad y se les puso el código - a los sanos y + a los enfermos. Luego se cargaron los datos en Epidat y el programa XLSTAT.

Tabla 5. Campos Índice IgM y grupo para la obtención del punto de corte óptimo del Kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con datos continuos.

Índice IgM	Grupo
Valor numérico	- 0 +
Valor numérico	- 0 +
...	...

3.5. Procesamiento de los datos

Los datos se recolectaron en hojas de trabajo (identificaciones, códigos, resultados, etc.), y luego fueron digitalizados en una base de datos de Microsoft Excel (anexo 5).

La evaluación de la concentración sérica de IgM contra el virus Dengue por los métodos de ELISA fue apoyado con un software basado en Microsoft® Excel.

El análisis de concordancia, la determinación de sensibilidad, especificidad y punto de corte optimo por Curva ROC se analizaron mediante el paquete estadístico EPIDAT (Programa para análisis epidemiológico de datos tabulados). version 3.1 y el programa XLSTAT.

3.6. Consideraciones éticas

Se solicitaron los permisos correspondientes al comité de ética del Hospital Regional Lambayeque para el empleo de los sueros de pacientes con solicitud de diagnóstico de dengue, almacenados en el servicio del Laboratorio Inmunología-Virología del Hospital Regional durante los años 2016 – 2017.

En mencionados sueros solamente se reevaluó el diagnóstico de dengue con diferentes kits a los usados en el diagnóstico asistencial con fines de

comparación. La información recolectada en este estudio se presentará con la mayor confidencialidad. Se utilizará solo con fines académicos y científicos. En ningún documento se obtendrán nombres o datos que pudieran identificar al paciente.

Las muestras utilizadas en el presente estudio fueron empleadas para los fines descritos en la investigación. Luego del procesamiento de las mismas, estas fueron devueltas al lugar de almacenamiento de muestras del laboratorio Inmunología-Virología del HRL.

No existe ningún conflicto de intereses en el presente estudio de parte de los investigadores.

IV. RESULTADOS

4.1. Detección de Dengue IgM mediante ELISA

4.1.1 Determinación de Dengue IgM por la prueba de referencia Kit Tariki Dengue IgM.

Se obtuvieron 57 resultados positivos y 57 negativos determinados por la prueba de referencia kit Tariki Dengue IgM. (Figura 8) (Tabla 6). Los resultados se ingresaron a la ficha de recolección de datos (anexo 5).

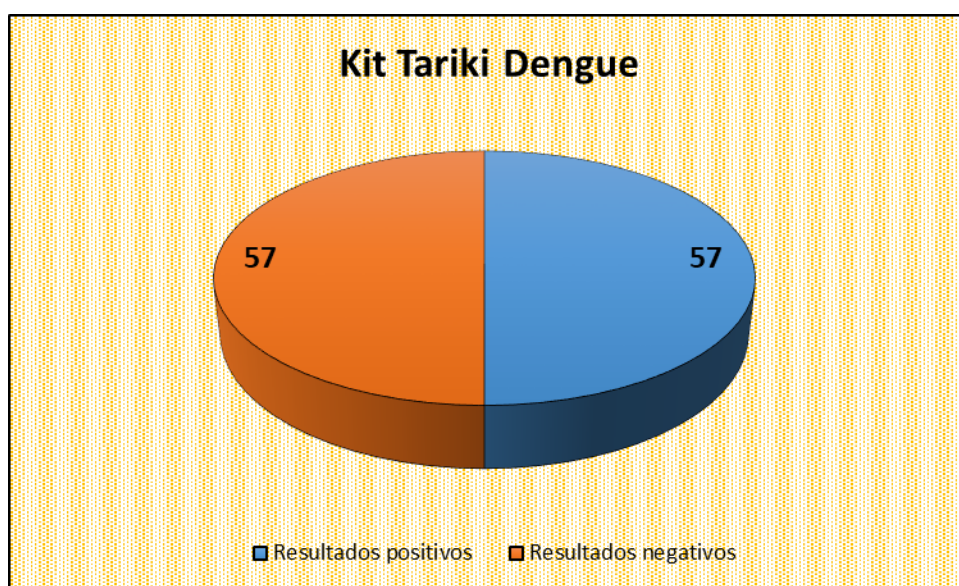


Figura 8. Total de resultados positivos y negativos de Dengue IgM determinados por el Kit Tariki Dengue en 118 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

Tabla 6. Frecuencia de resultados según rango de absorbancia determinados por el kit Tariqi dengue IgM en 114 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

Rango de absorbancias	Frecuencia absoluta	Interpretacion de Resultado
0.000 - 0.100	47	NEGATIVO
0.100 - 0.200	10	NEGATIVO
0.200 - 0.300	0	INDETERMINADO
0.300 - 0.400	0	POSITIVO
0.400 - 0.500	6	POSITIVO
0.500 - 0.600	10	POSITIVO
0.600 - 0.700	2	POSITIVO
0.700 - 0.800	4	POSITIVO
0.800 - 0.900	1	POSITIVO
0.900 - 1.000	4	POSITIVO
> 1.000	30	POSITIVO

Valores para la interpretacion de resultados
Negativo: < 0.216
Indeterminado: 0.216 - 0.264
Positivo: > 0.264

4.1.2 Determinación de Dengue IgM por la prueba comercial kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

Se obtuvieron 78 resultados positivos y 36 clasificados como negativos. De los cuales 21 se consideraron como falsos positivos. (Figura 9) (Tabla 7). Los resultados se ingresaron a la ficha de recolección de datos (anexo 5).

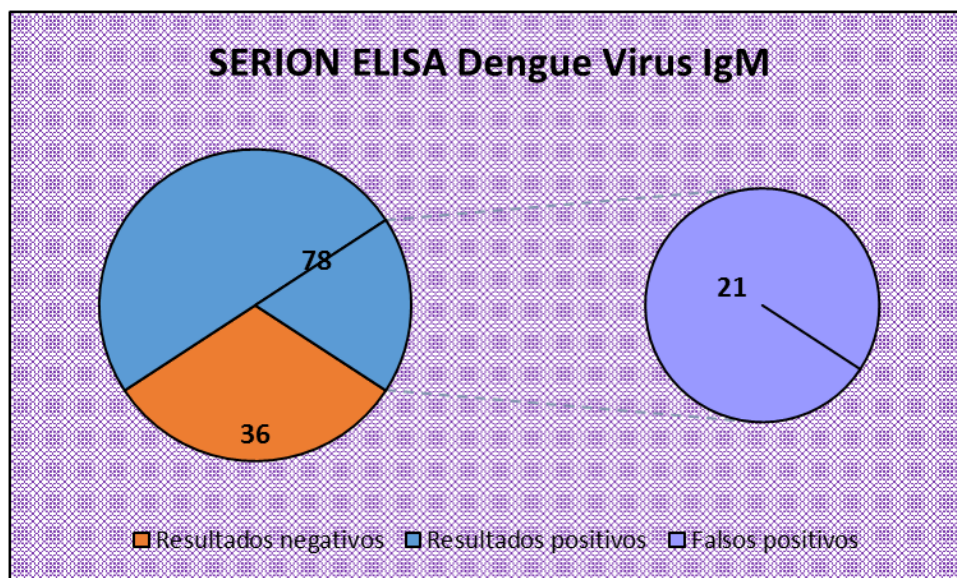


Figura 9. Total de resultados positivos, falsos positivos y negativos de Dengue IgM determinados por el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en 114 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

Tabla 7. Frecuencia de resultados según rango de título de anticuerpos IgM U/determinados por el kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en 114 sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

Rango de Título IgM	Frecuencia absoluta	Interpretación de Resultado
0.0 - 5.0	23	NEGATIVO
5.0 - 10.0	8	NEGATIVO
10.0 - 15.0	5	INDETERMINADO
15.0 - 20.0	3	POSITIVO
20.0 - 25.0	9	POSITIVO
25.0 - 30.0	0	POSITIVO
30.0 - 35.0	1	POSITIVO
35.0 - 40.0	2	POSITIVO
40.0 - 45.0	4	POSITIVO
45.0 - 50.0	1	POSITIVO
> 50.0	58	POSITIVO

Valores para la interpretación de resultados

Negativo: < 10.0

Indeterminado: 10.0 - 15.0

Positivo: > 15.0

4.2. Grado de Concordancia del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con el kit de referencia nacional Tariki dengue IgM.

De los resultados obtenidos por el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM se clasificaron en la matriz a 57 como verdaderos positivos, 36 verdaderos negativos, ningún falso negativo y 21 falsos positivos encontrando un acuerdo de 0,82 frente al kit referente (tabla 8).

Las pruebas diagnósticas presentaron un grado de concordancia bueno, Kappa igual a 0,63 (IC 95% 0,5 – 0,76) según la escala de Landis y Koch. Kappa mínimo igual a – 0,1014 y máximo de 0,6437 y error estimado de 0,0675.

Tabla 8. Concordancia del Kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM frente al kit Tariki dengue IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

SERION Elisa classic dengue virus IgM	Tariki dengue IgM		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	57	21	78
Negativo	0	36	36
Total	57	57	114

Nivel de confianza: 95,0 %
 Numero de categorías: 02
 Acuerdo observado: 0,8158
 Acuerdo esperado: 0,500

4.3. Estimación de la sensibilidad y especificidad del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM con respecto al kit Tariki Dengue IgM.

Se clasificaron los resultados en la matriz a 57 positivos considerados enfermos por la prueba de referencia, 21 resultados falsos positivos ya que se clasificaron como sanos y 36 negativos verdaderamente sanos (tabla 9).

La prueba SERION ELISA classic Dengue Virus IgM presento una sensibilidad de 100%(IC 95% 99,12 – 100) y una especificidad de 63,16 %(IC 95% 49,76 – 76,56). También se determinó el índice de validez 81,58

%(IC 95% 74,02 – 89,13), valor predictivo positivo 73,08%(IC 95% 62,59 – 83,56), valor predictivo negativo 100%(IC 95% 98,61 – 100) y un índice de Youden de 0,63 (IC 95% 0.51 – 0.76) (tabla 10).

Tabla 9. Clasificación de sanos y enfermos para dengue de acuerdo a resultado determinado por la prueba kit SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

SERION Elisa classic	Prueba de referencia(Tariki dengue IgM)		
dengue virus IgM	Enfermos	Sanos	Total
Positivo	57	21	78
Negativo	0	36	36
Total	57	57	114

Nivel de confianza: 95,0 %.

Tabla 10. Sensibilidad y especificidad del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en sueros de pacientes del Hospital Regional Lambayeque 2016-2017.

	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (%)	100	99,12	100
Especificidad (%)	63,16	49,76	76,56
Índice de validez (%)	81,58	74,02	89,13
Valor predictivo + (%)	73,08	62,59	83,56
Valor predictivo - (%)	100	98,61	100
Índice de Youden	0,63	0,51	0,76

IC: Intervalo de confianza.

4.4. Determinación del punto de corte óptimo para el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

Ingresando los datos correspondientes en la tabla Índice IgM y grupo se obtuvo mediante un análisis de curva ROC con un nivel de confianza del 95%, un AUC igual a 0,96 (IC 95% 0,93 – 0,99) y un error estimado de 0,0158 (anexo 6). De las 114 observaciones realizadas en el análisis la concentración mínima hallada de IgM fue de 0,001 y la máxima 780319,7

con una media de 161664,2. Se determinó el valor de 40,7 U/ml como punto de corte óptimo siendo este el que presentó la más alta sensibilidad y especificidad conjunta (anexo 7) (figura 10).

El nuevo punto de corte presenta una sensibilidad y especificidad de 95%(IC 95% 85 – 99) y 90%(IC 95% 78 – 95), respectivamente. Así también clasifica los resultados en 54 verdaderos positivos, 51 verdaderos negativos, 6 falsos positivos y 3 falsos negativos. (figura 11 y 12)

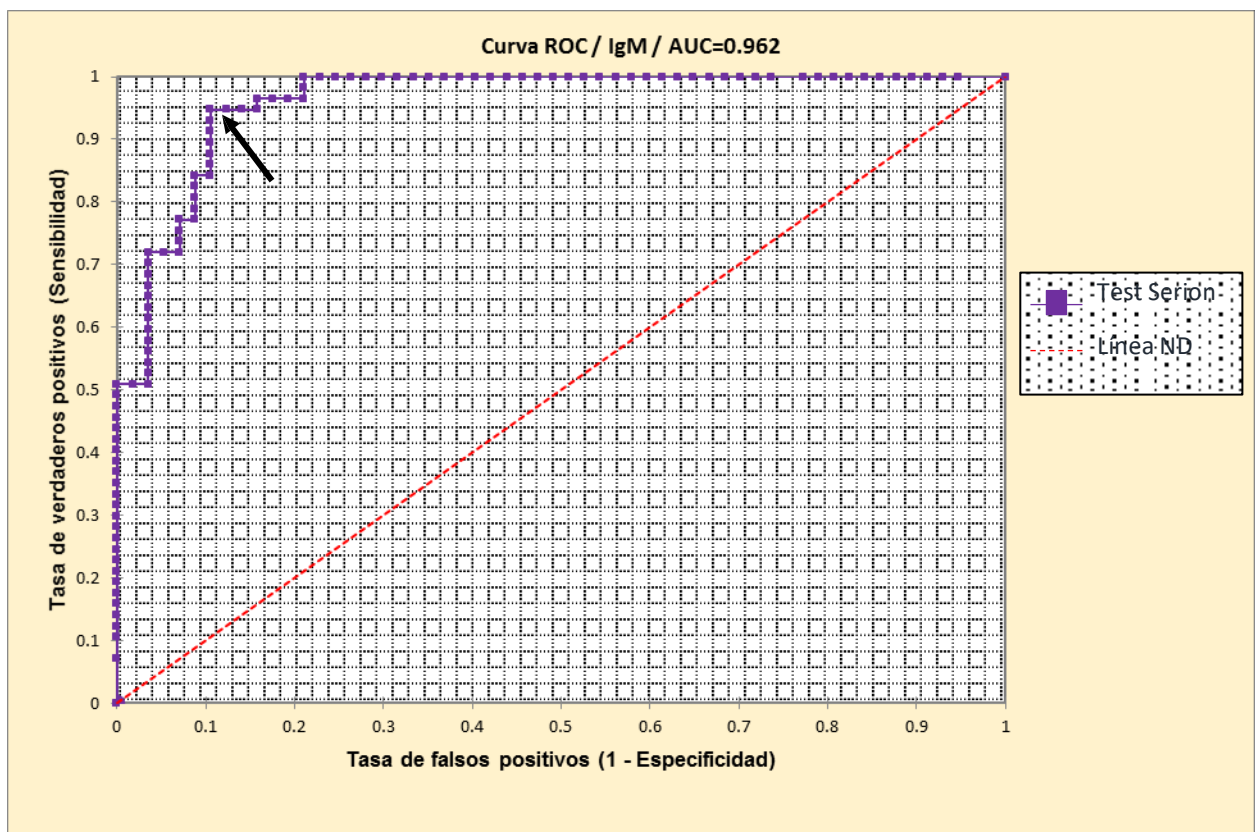


Figura 10. Gráfico de Curva ROC del test diagnóstico SERION ELISA classic Dengue Virus IgM. La flecha indica el punto de corte que determina la sensibilidad y especificidad conjunta más alta. Línea ND: Línea de no discriminación.

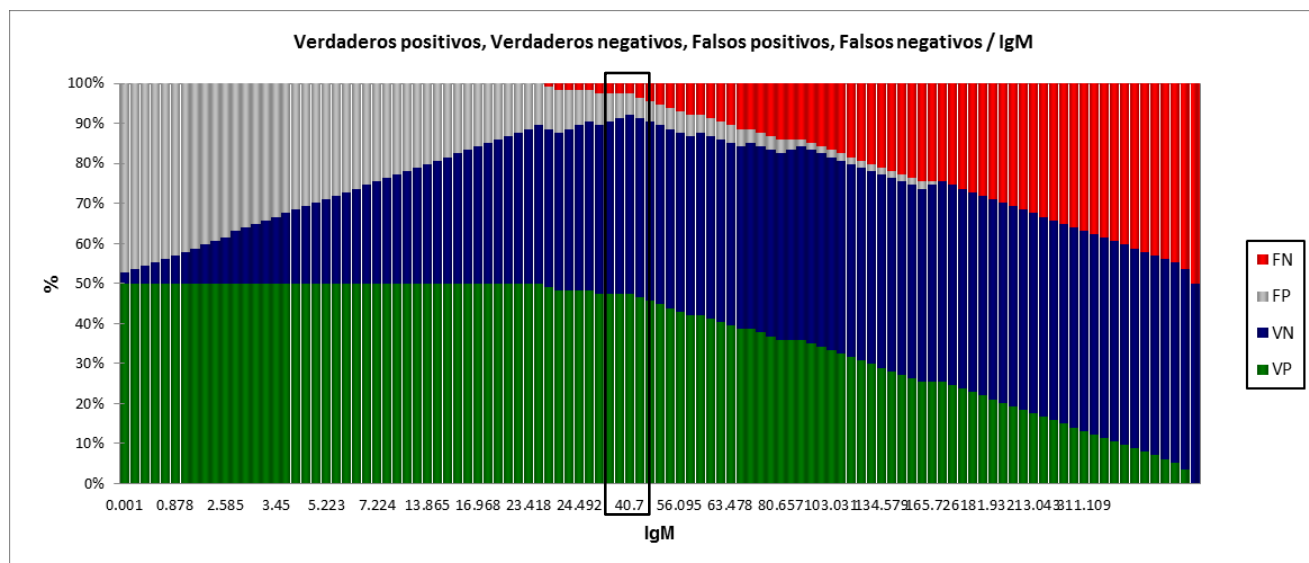


Figura 11. Verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN) según concentración de IgM determinado por el test diagnóstico SERION ELISA classic Dengue Virus IgM. El cuadro señala el punto de corte óptimo.

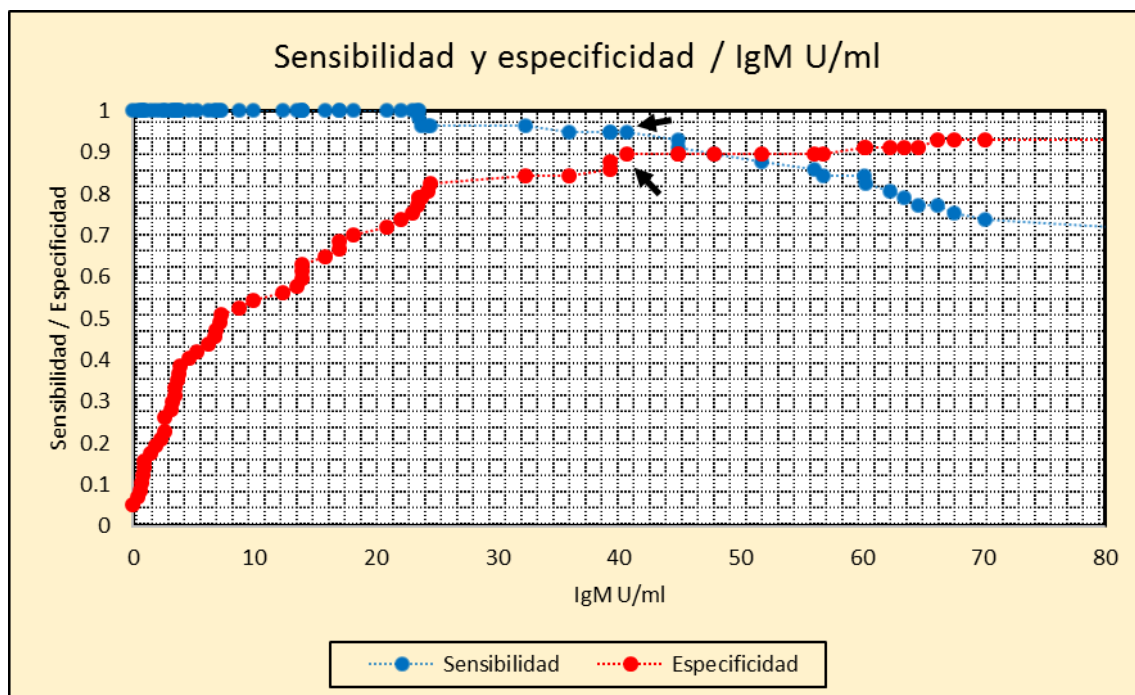


Figura 12. Sensibilidad y especificidad correspondiente a cada concentración de IgM U/ml. Las flechas indican la sensibilidad y especificidad del punto de corte 40,7 U/ml.

V. DISCUSIÓN

La investigación evaluó la utilidad diagnóstica del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM, método cuantitativo que detecta el título de anticuerpos dengue IgM, para lo cual se utilizó muestras de pacientes de la región norte del Perú donde el dengue es endémico (Ministerio de Salud, 2017).

Nuestro estudio presento fortalezas, como la selección de una muestra representativa para la evaluación de pruebas diagnósticas obtenida por el programa Epidat 3.1, empleo un kit de referencia nacional de calidad reconocido internacionalmente acorde al contexto epidemiológico de nuestra población como estándar de oro, interpretación ciega del test evaluado y prueba de referencia, y por ultimo aporta información importante al evaluar un kit cuantitativo (excelente herramienta para evaluar seroconversión) no considerado en otras investigaciones.(Aria et al., 2010; Blacksell et al., 2012; García et al., 2005; Lu et al., 2019) Los antecedentes citados presentan tamaños de muestra variables, mayores a nuestra investigación (Blacksell et al., 2012; García et al., 2005; Vásquez et al., 2007; Welch et al., 2014), y menores (Aria et al., 2010; Lu et al., 2019; Namekar et al., 2013) pero no especifican el porqué del tamaño de su muestra.

Las limitaciones presentadas incluyen el muestreo no probabilístico, el desconocimiento del estado de infección (primaria o secundaria), el serotipo de infección, el sexo y la edad del paciente, la gravedad de la enfermedad y la posibilidad de infección con otros flavivirus que podrían jugar un papel importante en el rendimiento del kit diagnóstico.

El estudio encontró un acuerdo alto (81,6%) de nuestro kit cuantitativo SERION Elisa classic Dengue Virus IgM con el referente cualitativo Tariki, obteniendo una buena concordancia según la escala de Landis y Koch. El acuerdo hallado está en el rango de los encontrados en otros contextos desde 71,5% hasta 98,4%, esta variación es debida al rendimiento de los diferentes kits empleados, los tamaños de muestra y pruebas de referencia empleadas. (Aria et al., 2010; Blacksell et al., 2012; Namekar et al., 2013; Vásquez et al., 2007) A diferencia de nuestro estudio la mayoría presentó una

muy buena concordancia (Aria et al., 2010; García et al., 2005; Namekar et al., 2013; Vásquez et al., 2007) pero tanto sus kits evaluados como sus referentes fueron cualitativos, y a excepción del resto el estudio de Lu et al. (2019) obtuvo una concordancia moderada, en el que es oportuno indicar que a pesar de utilizar un muestreo probabilístico empleo una muestra muy reducida.

La sensibilidad alcanzada por el kit SERION fue alta 100,0 % y no existió resultados falsos positivos generados en el ensayo siendo una garantía que la prueba capte una gran cantidad de posibles personas infectadas, tenga mucha utilidad como prueba de cribado y tamizaje de poblaciones, importante en estudios de prevalencia de la enfermedad. Sin embargo, la especificidad fue baja 63,2%, lo que nos muestra que existe un porcentaje significativo de probabilidades de obtener resultados falsos positivos, limitando su utilidad como prueba confirmatoria. La sensibilidad obtenida por otros kits evaluados es menor variando de 72,2% a 96,8% (Lu et al., 2019; Vásquez et al., 2007) y presentan una mejor especificidad por encima del 70% (Blacksell et al., 2012; Namekar et al., 2013; Vásquez et al., 2007; Welch et al., 2014) llegando inclusive a 100% con el Kit Inbios (Lu et al., 2019), aunque este último estudio solo trabajo con 11 muestras clasificadas como negativas por lo que habría un fuerte sesgo en este hallazgo comparándolo con el presente y los demás antecedentes.

La baja especificidad es causada por reacciones inespecíficas entre el suero del paciente (anticuerpos) y el antígeno por lo que se sospecha que los resultados falsos positivos sean debido a la diferente fuente de antígeno y origen de validación del kit evaluado SERION frente al referente Tariki. El lisado de virus DENV-2 que emplea nuestro kit evaluado de fabricante virion/serion (Alemania) no nos especifica el origen de la cepa, pero consideramos que tiene un origen extranjero mientras que nuestro kit referente al ser producido íntegramente en el Instituto Nacional de Salud (Perú) utiliza cepas de los 4 serotipos circulantes en nuestro país (d1 cepa Hawái, D2 New Guinea, D3H-87 y D4H-241). En segundo lugar, la validación de una prueba diagnóstica es generalmente aplicable a una determinada región geográfica, la validez del kit alemán fue evaluada con muestras de sueros de pacientes de América Central e India, así como con

pacientes del sur de Alemania en contraste con el kit de referencia diseñado, validado y producido en el Perú. Esto demostraría la baja especificidad del kit SERION y la vez su alta sensibilidad para determinar anticuerpos dengue IgM en la población peruana. La presente investigación obtuvo para el kit SERION un AUC de 0.82, así como una suma de sensibilidad más especificidad (S+E) igual a 1,63 definiéndolo como un test de buena exactitud diagnóstica (proporción de resultados correctos). Nuestro resultado de S+E fue similar a lo reportado por Lu et al (2019) al evaluar el kit Panbio (EE. UU), sin embargo, fue menor en comparación con otros estudios en que esta suma superó el valor de 1,7 (Blacksell et al., 2012; Namekar et al., 2013; Vásquez et al., 2007; Welch et al., 2014). Entendemos que nuestro resultado por debajo de otros estudios es debido a la marcada diferencia entre sensibilidad y especificidad encontrada por lo que consideramos que el punto de corte dado por el fabricante no es el ideal para la seroepidemiología de nuestra población al ser este kit proveniente de otra realidad geográfica.

Mediante un análisis de curva ROC se determinaron distintos puntos de corte, dependiendo del valor de este cambio la sensibilidad y especificidad del test. El punto de corte óptimo escogido fue el que presentó el valor más alto de sensibilidad y especificidad conjunta (1,84) y un AUC de 0,96 elevando su capacidad discriminadora diagnóstica y catalogándolo como un test de muy buena exactitud diagnóstica. Este punto de corte o valor umbral es 40,7 U/ml, un valor por encima de este es considerado un resultado positivo, con esto aumenta significativamente la especificidad del kit a 90% reduciendo a 6 los resultados falsos positivos, disminuyendo ligeramente su sensibilidad a 95% presentándose 3 casos falsos negativos.

Estos datos nos indican la utilidad diagnóstica del Kit SERION y el punto de corte ideal para nuestra realidad geográfica que optimiza su rendimiento diagnóstico. De considerarse el nuevo punto de corte esta prueba sería equivalente al kit de referencia, de tal manera que eventualmente podrían ser reemplazados o intercambiados dependiendo de su disponibilidad. En consecuencia, es necesario el ajuste del punto de corte para el uso de la prueba en los laboratorios de análisis clínicos tanto estatales como privados del Perú para la confirmación serológica de dengue.

VI. CONCLUSIONES

Se determinó una concordancia buena según la escala de Landis y koch, con un Índice de Kappa de 0,63 ((IC 95% 0,5 – 0,76) entre el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM y kit de referencia nacional Tariki dengue IgM.

Se estimó una alta sensibilidad de 100%(IC 95% 99,12 – 100) y una baja especificidad de 63.16 %(IC 95% 49,76 – 76,56) del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM comparado con el kit de referencia nacional.

EL punto de corte óptimo obtenido para el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM adecuado a nuestra población fue 40,7 U/ml de DENV IgM.

VII. RECOMENDACIONES

Aplicar el punto de corte obtenido en el presente estudio para un mejor diagnóstico de infección aguda y reciente de dengue con el kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM, en nuestra población.

Realizar estudios con población asintomática de dengue para la obtención de puntos de corte del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM en zonas no endémicas.

Caracterizar a los pacientes según tipo de infección, primaria o secundaria, realizar el diagnóstico diferencial frente a otras patologías para obtener mejores resultados en la evaluación de los kits diagnósticos DENV IgM.

Realizar control de calidad interno de las pruebas diagnósticas de uso en los establecimientos de salud.

Realizar control de calidad externo nacional e internacional de las pruebas diagnósticas especialmente con las utilizadas como estándar o referencia.

Correlacionar los síntomas clínicos del paciente con las pruebas de laboratorio para corroborar el diagnóstico de dengue.

Realizar más estudios comparativos que mejoren la utilidad diagnóstica de las pruebas de laboratorio importadas adecuándolas a la realidad de cada población.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aria, L., Acosta, M., Guillen, Y., Rojas, A., Meza, T., & Infanzón, B. (2016). Desempeño del Kit ELISA Chagas IICS V.1 para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 14(3), 7-13. <http://archivo.bc.una.py/index.php/RIIC/article/view/1102/953>
2. Aria, L., Guillén, Y., Rojas, A., Acosta, M., Roig, C., Meza, T., carpinelli, M., & Ferreira, L. (2010). Concordancia de antígenos de dengue en el ELISA de captura de IgM (MAC ELISA) en el IICS-UNA. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 8(2), 34-38. <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v8n2/v8n2a06.pdf>
3. Blacksell, S. D., Jarman, R. G., Gibbons, R. V., Tanganuchitcharnchai, A., Mammen, M. P., Jr, Nisalak, A., Kalayanaroj, S., Bailey, M. S., Premaratna, R., de Silva, H. J., Day, N. P., & Lalloo, D. G. (2012). Comparison of seven commercial antigen and antibody enzyme-linked immunosorbent assays for detection of acute dengue infection. *Clinical and vaccine immunology: CVI*, 19(5), 804–810. <https://doi.org/10.1128/CVI.05717-11>.
4. Cabezas S, César. (2005). Dengue en el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 22(3), 212-228. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342005000300009&lng=es&tlng=es.
5. Cabezas, C., Fiestas, V., García-Mendoza, M., Palomino, M., Mamani, E., & Donaires, F. (2015). Dengue en el Perú: a un cuarto de siglo de su reemergencia. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32(1), 146-156. doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2015.321.1587>
6. Cerda, Jaime, & Cifuentes, Lorena. (2012). Uso de curvas ROC en investigación clínica: Aspectos teórico-prácticos. *Revista chilena de infectología*, 29(2), 138-141. doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182012000200003>
7. Colque C. (2010). *Evaluación de la sensibilidad y especificidad de dos métodos inmunoenzimáticos (quimioluminiscencia y Elisa) frente al estudio histopatológico, en la determinación del antígeno prostático específico, en pacientes de la caja petrolera de salud, octubre-mayo 2007-2008(TD-1778)*. [Tesis para optar el título de licenciatura en bioquímica, Universidad Mayor de San Andrés]. Repositorio de la Universidad Mayor de San Andrés. <http://hdl.handle.net/123456789/3712>

8. Cortés-Reyes, Édgar, Rubio-Romero, Jorge Andrés, & Gaitán-Duarte, Hernando. (2010). Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 61(3), 247-255. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342010000300009&lng=en&tlng=es.
9. De Decker, S., Vray, M., Sistek, V., Labeau, B., Enfissi, A., Rousset, D., & Matheus, S. (2015). Evaluación de la precisión diagnóstica de un nuevo ensayo de captura de IgA contra el dengue (captura de IgA del dengue Platelia, Bio-Rad) para la detección de la infección por dengue. *Plos Neglected tropical diseases*, 9 (3), e0003596. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003596>
10. Díaz, F., Martínez, R., Ocazonez, R., & Villar, L. (2006) Evaluación de la prueba de IgM en suero agudo para el diagnóstico del dengue en un área endémica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 24(2), 90-92. doi: <https://doi.org/10.1157/13085015>
11. Gaikwad, S., Sawant, S. S., & Shastri, J. S. (2017). Comparison of nonstructural protein-1 antigen detection by rapid and enzyme-linked immunosorbent assay test and its correlation with polymerase chain reaction for early diagnosis of dengue. *Journal of laboratory physicians*, 9(3), 177–181. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.208265>
12. García, M., Merino, N., Mamani, E., Gutiérrez, V., Paredes, T., Farfán, M., & Cabezas, C. (2005). Buena concordancia de un método acortado para determinación de anticuerpos IgM antidengue. *Boletín Instituto Nacional de Salud*. 11(5-6):135. <http://repositorio.ins.gob.pe/handle/INS/734>
13. Gonzáles, M., & Velarde, C. (2012). Lista de comprobación de estudios sobre precisión de pruebas diagnósticas: declaración STARD. *Evidencias en Pediatría*, 8(2), 1-4. <https://evidenciasenpediatria.es/files/41-11628-RUTA/43Fundamentos.pdf>
14. Guzmán, María G., García, Gissel, & Kourí, Gustavo. (2008). Dengue y fiebre hemorrágica del dengue: un problema de salud mundial. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60(1) http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000100001&lng=es&tlng=es
15. Guzmán, María G., & Vázquez, Susana. (2002). Apuntes sobre el diagnóstico de laboratorio del virus dengue. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(3), 180-188. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300003&lng=es&tlng=es.

16. Lu, Y., Sengvilaipaseuth, O., Chanthongthip, A., Phonemixay, O., Vongsouvath, M., & Phouminh, P. (2019) Comparison of Two Commercial ELISA Kits for the Detection of Anti-Dengue IgM for Routine Dengue Diagnosis in Laos. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 4(3), 1-10. Doi: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4030111>
17. Mamani, Enrique. (2014). Nuevo serotipo 5 del virus dengue: Necesidad de fortalecer la vigilancia molecular en Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 31(1), 169-180. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000100028&lng=es&tlng=es
18. Martínez, E. (2008). Dengue. *Estudos Avançados*, 22(64), 33-52. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-40142008000300004>
19. Ministerio de salud. (2011). *Guía de práctica clínica para la atención de casos de Dengue en el Perú* (RM N° 087-2011/MINSA). <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2366.pdf>
20. Ministerio de Salud. (2017). *Guía de práctica clínica para la atención de casos de Dengue en el Perú* (RM N° 071-2017/MINSA). <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/289206/071-2017-MINSA.PDF>
21. Ministerio de Salud, Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. (2017). *Boletín Epidemiológico del Perú SE 51-2017 (del 17 al 23 de diciembre)*. <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/51.pdf>
22. Mumtaz, A., Afzal, N., Sami, W., Tahir, R., Javeed, K., & Mehmood, S. Evaluation of four Elisa based immunoassays for the Detection of IgM antibodies against dengue virus. *Biomedica*, 26(Jan. - Jun. 2010), 54–57. https://www.researchgate.net/publication/257411137_EVALUATION_OF_FOUR_ELISA_BASED_IMMUNOASSAYS_FOR_THE_DETECTION_OF_IgM_ANTIBODIES_AGAINST_DENGUE_VIRUS
23. Namekar, M., Ellis, EM, O'Connell, M., Elm, J., Gurary, A., Park, SY, Imrie, A. y Nerurkar, VR. (2013). Evaluación de un nuevo ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de captura de inmunoglobulina M disponible comercialmente para el diagnóstico de la infección por el virus del dengue. *Revista de microbiología clínica*, 51 (9), 3102–3106. doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.00351-13>
24. Organización Panamericana de la salud. (2010). *Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control, Nueva Edición 2009* (ISBN 978-99954-792-1-3). <https://iris.paho.org/handle/10665.2/31071>

25. Vazquez, S., Hafner, G., Ruiz, D., Calzada, N., & Guzman, M. G. (2007). Evaluation of immunoglobulin M and G capture enzyme-linked immunosorbent assay Panbio kits for diagnostic dengue infections. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 39(3), 194–198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.04.003>
26. Welch, R. J., Chang, G. J., & Litwin, C. M. (2014). Comparison of a commercial dengue IgM capture ELISA with dengue antigen focus reduction microneutralization test and the Centers for Disease Control dengue IgM capture-ELISA. *Journal of virological methods*, 195(enero de 2014), 247–249. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.10.019>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Clasificación científica del virus Dengue

Grupo: IV (virus ARN monocatenario positivo)
Familia: <i>Flaviviridae</i>
Género: <i>Flavivirus</i>
Serocomplejo: Virus Dengue (DENV)
DENV1
DENV2
DENV3
DENV4
DENV5

Anexo 2. Sueros almacenados a -70°C en el servicio del Laboratorio Inmunología-Virología del Hospital Regional durante los años 2016 - 2017.



Anexo 3. Reactivos del kit Tariki Dengue



Anexo 4. Reactivos del kit SERION Elisa Dengue Virus IgM



Anexo 5. Ficha de recolección de datos de las muestras procesadas por el kit comercial SERION ELISA Dengue IgM y kit de referencia nacional Tariki Dengue.

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS						
N°	CÓDIGO	Kit ELISA	IgM	Absorbancia	CutOff	Interpretación
1	LIV16-0007	Tariki		0.483	***	POSITIVO
		Virion-serion	47.843	1.012	*	POSITIVO
2	LIV16-0013	Tariki		0.086	***	NEGATIVO
		Virion-serion	14.781	0.456	*	INDETERMINADO
3	LIV16-0014	Tariki		1.316	****	POSITIVO
		Virion-serion	583573.696	3.403	*	POSITIVO
4	LIV16-0015	Tariki		1.447	***	POSITIVO
		Virion-serion	181.93	2.158	*	POSITIVO
5	LIV16-0026	Tariki		0.615	***	POSITIVO
		Virion-serion	182.327	2.160	*	POSITIVO
6	LIV16-0085	Tariki		0.103	***	NEGATIVO
		Virion-serion	13.865	0.438	*	INDETERMINADO
7	LIV16-0094	Tariki		0.076	****	NEGATIVO
		Virion-serion	15.838	0.323	*	POSITIVO
8	LIV16-0112	Tariki		1.110	***	POSITIVO
		Virion-serion	110.889	1.699	*	POSITIVO
9	LIV16-0135	Tariki		1.160	****	POSITIVO
		Virion-serion	134.579	1.287	*	POSITIVO
10	LIV16-0153	Tariki		1.645	***	POSITIVO
		Virion-serion	157.204	2.023	*	POSITIVO
11	LIV16-0213	Tariki		0.926	***	POSITIVO
		Virion-serion	51.767	1.067	*	POSITIVO
12	LIV16-0248	Tariki		0.722	***	POSITIVO
		Virion-serion	139.097	1.909	*	POSITIVO
13	LIV16-0260	Tariki		0.061	***	NEGATIVO
		Virion-serion	13.967	0.440	*	INDETERMINADO
14	LIV16-0289	Tariki		0.093	***	NEGATIVO
		Virion-serion	3.258	0.221	*	NEGATIVO
15	LIV16-0326	Tariki		0.915	***	POSITIVO
		Virion-serion	35.881	0.831	*	POSITIVO
16	LIV16-0411	Tariki		0.074	****	NEGATIVO
		Virion-serion	16.59	0.333	*	POSITIVO
17	LIV16-0421	Tariki		0.083	***	NEGATIVO
		Virion-serion	0.372	0.162	*	NEGATIVO
18	LIV16-0431	Tariki		0.072	****	NEGATIVO
		Virion-serion	6.802	0.198	*	NEGATIVO
19	LIV16-0433	Tariki		0.090	***	NEGATIVO
		Virion-serion	3.69	0.230	*	NEGATIVO

20	LIV16-0434	Tariki		1.585	***	POSITIVO
		Virion-serion	4273.821	3.607	*	POSITIVO
21	LIV16-0440	Tariki		0.103	****	NEGATIVO
		Virion-serion	7.153	0.203	*	NEGATIVO
22	LIV16-0476	Tariki		0.101	***	NEGATIVO
		Virion-serion	3.45	0.225	*	NEGATIVO
23	LIV16-0478	Tariki		1.029	***	POSITIVO
		Virion-serion	98.564	1.592	*	POSITIVO
24	LIV16-0483	Tariki		0.484	***	POSITIVO
		Virion-serion	41.064	0.912	*	POSITIVO
25	LIV16-0491	Tariki		0.082	****	NEGATIVO
		Virion-serion	22.083	0.404	*	POSITIVO
26	LIV16-0510	Tariki		1.057	****	POSITIVO
		Virion-serion	583573.696	3.074	*	POSITIVO
27	LIV16-0520	Tariki		1.576	***	POSITIVO
		Virion-serion	80.657	1.416	*	POSITIVO
28	LIV16-0524	Tariki		0.099	***	NEGATIVO
		Virion-serion	40.149	0.898	*	POSITIVO
29	LIV16-0525	Tariki		0.921	***	POSITIVO
		Virion-serion	23.548	0.621	*	POSITIVO
30	LIV16-0535	Tariki		0.483	***	POSITIVO
		Virion-serion	173.807	2.116	*	POSITIVO
31	LIV16-0544	Tariki		0.099	****	NEGATIVO
		Virion-serion	39.318	0.604	*	POSITIVO
32	LIV16-0579	Tariki		0.502	****	POSITIVO
		Virion-serion	63.478	0.834	*	POSITIVO
33	LIV16-0630	Tariki		0.874	***	POSITIVO
		Virion-serion	290.161	2.565	*	POSITIVO
34	LIV16-0771	Tariki		0.501	***	POSITIVO
		Virion-serion	64.653	1.234	*	POSITIVO
35	LIV16-1052	Tariki		0.579	***	POSITIVO
		Virion-serion	7068.484	3.646	*	POSITIVO
36	LIV16-1075	Tariki		1.096	***	POSITIVO
		Virion-serion	274.683	2.520	*	POSITIVO
37	LIV16-1076	Tariki		0.433	***	POSITIVO
		Virion-serion	1154.599	3.350	*	POSITIVO
38	LIV16-1110	Tariki		0.067	****	NEGATIVO
		Virion-serion	86.268	1.009	*	POSITIVO
39	LIV16-1279	Tariki		0.090	***	NEGATIVO
		Virion-serion	172.867	2.111	*	POSITIVO
40	LIV16-1504	Tariki		0.095	****	NEGATIVO
		Virion-serion	66.222	0.857	*	POSITIVO
41	LIV17-0148	Tariki		0.104	****	NEGATIVO

		Virion-serion	8.706	0.225	*	NEGATIVO
42	LIV17-0152	Tariki		1.103	***	POSITIVO
		Virion-serion	103.373	1.635	*	POSITIVO
43	LIV17-0175	Tariki		0.089	****	NEGATIVO
		Virion-serion	16.968	0.338	*	POSITIVO
44	LIV17-0200	Tariki		0.072	****	NEGATIVO
		Virion-serion	12.367	0.276	*	INDETERMINADO
45	LIV17-0212	Tariki		0.066	****	NEGATIVO
		Virion-serion	23.522	0.422	*	POSITIVO
46	LIV17-0227	Tariki		0.105	****	NEGATIVO
		Virion-serion	20.899	0.389	*	POSITIVO
47	LIV17-0238	Tariki		0.740	***	POSITIVO
		Virion-serion	503.652	2.961	*	POSITIVO
48	LIV17-0242	Tariki		1.004	**	POSITIVO
		Virion-serion	1074.875	2.998	*	POSITIVO
49	LIV17-0252	Tariki		1.238	**	POSITIVO
		Virion-serion	177.28	1.926	*	POSITIVO
50	LIV17-0279	Tariki		0.087	****	NEGATIVO
		Virion-serion	7.224	0.204	*	NEGATIVO
51	LIV17-0291	Tariki		1.592	***	POSITIVO
		Virion-serion	179.87	1.938	*	POSITIVO
52	LIV17-0292	Tariki		2.555	***	POSITIVO
		Virion-serion	780319.72	3.852	*	POSITIVO
53	LIV17-0294	Tariki		0.427	***	POSITIVO
		Virion-serion	70.178	1.175	*	POSITIVO
54	LIV17-0297	Tariki		0.097	**	NEGATIVO
		Virion-serion	60.211	1.066	*	POSITIVO
55	LIV17-0319	Tariki		1.682	***	POSITIVO
		Virion-serion	350.132	2.712	*	POSITIVO
56	LIV17-0408	Tariki		0.078	****	NEGATIVO
		Virion-serion	88.742	1.026	*	POSITIVO
57	LIV17-0412	Tariki		0.097	***	NEGATIVO
		Virion-serion	22.995	0.611	*	POSITIVO
58	LIV17-0424	Tariki		1.086	***	POSITIVO
		Virion-serion	270.746	2.508	*	POSITIVO
59	LIV17-0426	Tariki		1.451	***	POSITIVO
		Virion-serion	133.826	1.873	*	POSITIVO
60	LIV17-0432	Tariki		2.242	***	POSITIVO
		Virion-serion	151.076	1.986	*	POSITIVO
61	LIV17-0434	Tariki		0.094	****	NEGATIVO
		Virion-serion	24.492	0.434	*	POSITIVO
62	LIV17-0447	Tariki		1.203	**	POSITIVO
		Virion-serion	186.537	1.968	*	POSITIVO

63	LIV17-0507	Tariki		0.092	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.001	0.174	*	NEGATIVO
64	LIV17-0508	Tariki		0.545	**	POSITIVO
		Virion-serion	207.554	2.055	*	POSITIVO
65	LIV17-0511	Tariki		0.068	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	3.186	0.270	*	NEGATIVO
66	LIV17-0515	Tariki		0.106	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	4.624	0.306	*	NEGATIVO
67	LIV17-0518	Tariki		0.095	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	3.786	0.285	*	NEGATIVO
68	LIV17-0519	Tariki		1.635	**	POSITIVO
		Virion-serion	780319.72	3.383	*	POSITIVO
69	LIV17-0527	Tariki		0.413	**	POSITIVO
		Virion-serion	103.031	1.474	*	POSITIVO
70	LIV17-0534	Tariki		0.074	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	5.223	0.321	*	NEGATIVO
71	LIV17-0535	Tariki		2.496	**	POSITIVO
		Virion-serion	5177.022	3.267	*	POSITIVO
72	LIV17-0536	Tariki		0.106	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.878	0.213	*	NEGATIVO
73	LIV17-0553	Tariki		0.071	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	1.86	0.237	*	NEGATIVO
74	LIV17-0554	Tariki		0.104	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	9.867	0.436	*	NEGATIVO
75	LIV17-0557	Tariki		0.090	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	2.585	0.255	*	NEGATIVO
76	LIV17-0558	Tariki		0.075	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	1.454	0.227	*	NEGATIVO
77	LIV17-0560	Tariki		1.582	**	POSITIVO
		Virion-serion	244.292	2.184	*	POSITIVO
78	LIV17-0569	Tariki		0.082	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.627	0.207	*	NEGATIVO
79	LIV17-0572	Tariki		0.094	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	2.626	0.256	*	NEGATIVO
80	LIV17-0583	Tariki		0.098	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.753	0.210	*	NEGATIVO
81	LIV17-0584	Tariki		0.085	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	3.905	0.288	*	NEGATIVO
82	LIV17-0586	Tariki		0.079	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	2.304	0.248	*	NEGATIVO
83	LIV17-0588	Tariki		1.273	**	POSITIVO
		Virion-serion	159.877	1.840	*	POSITIVO
84	LIV17-0628	Tariki		0.079	*****	NEGATIVO

		Virion-serion	0.001	0.189	*	NEGATIVO
85	LIV17-0644	Tariki		1.278	**	POSITIVO
		Virion-serion	60.299	1.067	*	POSITIVO
86	LIV17-0675	Tariki		0.080	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.795	0.211	*	NEGATIVO
87	LIV17-0683	Tariki		0.093	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.001	0.167	*	NEGATIVO
88	LIV17-0699	Tariki		0.962	**	POSITIVO
		Virion-serion	200.005	2.025	*	POSITIVO
89	LIV17-0700	Tariki		1.168	**	POSITIVO
		Virion-serion	780319.72	3.382	*	POSITIVO
90	LIV17-0726	Tariki		0.096	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	0.92	0.214	*	NEGATIVO
91	LIV17-0742	Tariki		0.085	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	2.626	0.256	*	NEGATIVO
92	LIV17-0744	Tariki		0.079	*****	NEGATIVO
		Virion-serion	3.426	0.276	*	NEGATIVO
93	LIV17-0782	Tariki		1.191	**	POSITIVO
		Virion-serion	213.043	2.076	*	POSITIVO
94	LIV17-0816	Tariki		1.750	**	POSITIVO
		Virion-serion	56.095	1.018	*	POSITIVO
95	LIV17-0820	Tariki		0.571	**	POSITIVO
		Virion-serion	590.3	2.754	*	POSITIVO
96	LIV17-0824	Tariki		0.596	**	POSITIVO
		Virion-serion	2345.962	3.179	*	POSITIVO
97	LIV17-0863	Tariki		0.508	**	POSITIVO
		Virion-serion	99.543	1.446	*	POSITIVO
98	LIV17-0864	Tariki		0.563	**	POSITIVO
		Virion-serion	311.109	2.364	*	POSITIVO
99	LIV17-0908	Tariki		1.126	**	POSITIVO
		Virion-serion	67.624	1.148	*	POSITIVO
100	LIV17-0915	Tariki		0.645	**	POSITIVO
		Virion-serion	125.631	1.638	*	POSITIVO
101	LIV17-0940	Tariki		0.755	**	POSITIVO
		Virion-serion	56.855	1.027	*	POSITIVO
102	LIV17-0941	Tariki		0.101	****	NEGATIVO
		Virion-serion	13.464	0.291	*	INDETERMINADO
103	LIV17-1000	Tariki		0.562	**	POSITIVO
		Virion-serion	44.851	0.877	*	POSITIVO
104	LIV17-1020	Tariki		0.102	**	NEGATIVO
		Virion-serion	23.418	0.562	*	POSITIVO
105	LIV17-1028	Tariki		2.489	**	POSITIVO
		Virion-serion	780319.72	3.741	*	POSITIVO

106	LIV17-1032	Tariki		0.593	**	POSITIVO
		Virion-serion	62.329	1.090	*	POSITIVO
107	LIV17-1048	Tariki		0.082	**	NEGATIVO
		Virion-serion	165.726	1.870	*	POSITIVO
108	LIV17-1112	Tariki		0.079	**	NEGATIVO
		Virion-serion	32.264	0.700	*	POSITIVO
109	LIV17-1133	Tariki		0.081	**	NEGATIVO
		Virion-serion	18.145	0.474	*	POSITIVO
110	LIV17-1137	Tariki		0.765	**	POSITIVO
		Virion-serion	23.788	0.568	*	POSITIVO
111	LIV17-1153	Tariki		0.070	****	NEGATIVO
		Virion-serion	24.249	0.431	*	POSITIVO
112	LIV17-1207	Tariki		0.092	**	NEGATIVO
		Virion-serion	40.7	0.821	*	POSITIVO
113	LIV17-1208	Tariki		0.087	***	NEGATIVO
		Virion-serion	6.184	0.282	*	NEGATIVO
114	LIV17-1238	Tariki		0.083	***	NEGATIVO
		Virion-serion	6.762	0.294	*	NEGATIVO

(*) **Negativo:** < 10.0
Indeterminado: 10.0 - 15.0
Positivo: > 15.0

(**) **Negativo:** < 0.216
Indeterminado: 0.216 - 0.264
Positivo: > 0.264

(***) **Negativo:** < 0.268
Indeterminado: 0.268 - 0.328
Positivo: > 0.328

(****) **Negativo:** < 0.221
Indeterminado: 0.221 - 0.271
Positivo: > 0.271

(*****) **Negativo:** < 0.261
Indeterminado: 0.261 - 0.319
Positivo: > 0.319

Anexo 6. Datos ingresados en los campos índice IgM y grupo para la determinación del punto de corte óptimo del kit comercial SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

N°	CÓDIGO	Kit ELISA	INDICE IgM	GRUPO	CutOff	Interpretación
1	LIV16-0007	Virion-serion	47.843	+	*	POSITIVO
2	LIV16-0013	Virion-serion	14.781	-	*	INDETERMINADO
3	LIV16-0014	Virion-serion	583573.696	+	*	POSITIVO
4	LIV16-0015	Virion-serion	181.93	+	*	POSITIVO
5	LIV16-0026	Virion-serion	182.327	+	*	POSITIVO
6	LIV16-0085	Virion-serion	13.865	-	*	INDETERMINADO
7	LIV16-0094	Virion-serion	15.838	-	*	POSITIVO
8	LIV16-0112	Virion-serion	110.889	+	*	POSITIVO
9	LIV16-0135	Virion-serion	134.579	+	*	POSITIVO
10	LIV16-0153	Virion-serion	157.204	+	*	POSITIVO
11	LIV16-0213	Virion-serion	51.767	+	*	POSITIVO
12	LIV16-0248	Virion-serion	139.097	+	*	POSITIVO
13	LIV16-0260	Virion-serion	13.967	-	*	INDETERMINADO
14	LIV16-0289	Virion-serion	3.258	-	*	NEGATIVO
15	LIV16-0326	Virion-serion	35.881	+	*	POSITIVO
16	LIV16-0411	Virion-serion	16.59	-	*	POSITIVO
17	LIV16-0421	Virion-serion	0.372	-	*	NEGATIVO
18	LIV16-0431	Virion-serion	6.802	-	*	NEGATIVO
19	LIV16-0433	Virion-serion	3.69	-	*	NEGATIVO
20	LIV16-0434	Virion-serion	4273.821	+	*	POSITIVO
21	LIV16-0440	Virion-serion	7.153	-	*	NEGATIVO
22	LIV16-0476	Virion-serion	3.45	-	*	NEGATIVO
23	LIV16-0478	Virion-serion	98.564	+	*	POSITIVO
24	LIV16-0483	Virion-serion	41.064	+	*	POSITIVO
25	LIV16-0491	Virion-serion	22.083	-	*	POSITIVO
26	LIV16-0510	Virion-serion	583573.696	+	*	POSITIVO
27	LIV16-0520	Virion-serion	80.657	+	*	POSITIVO
28	LIV16-0524	Virion-serion	40.149	-	*	POSITIVO
29	LIV16-0525	Virion-serion	23.548	+	*	POSITIVO
30	LIV16-0535	Virion-serion	173.807	+	*	POSITIVO
31	LIV16-0544	Virion-serion	39.318	-	*	POSITIVO
32	LIV16-0579	Virion-serion	63.478	+	*	POSITIVO

33	LIV16-0630	Virion-serion	290.161	+	*	POSITIVO
34	LIV16-0771	Virion-serion	64.653	+	*	POSITIVO
35	LIV16-1052	Virion-serion	7068.484	+	*	POSITIVO
36	LIV16-1075	Virion-serion	274.683	+	*	POSITIVO
37	LIV16-1076	Virion-serion	1154.599	+	*	POSITIVO
38	LIV16-1110	Virion-serion	86.268	-	*	POSITIVO
39	LIV16-1279	Virion-serion	172.867	-	*	POSITIVO
40	LIV16-1504	Virion-serion	66.222	-	*	POSITIVO
41	LIV17-0148	Virion-serion	8.706	-	*	NEGATIVO
42	LIV17-0152	Virion-serion	103.373	+	*	POSITIVO
43	LIV17-0175	Virion-serion	16.968	-	*	POSITIVO
44	LIV17-0200	Virion-serion	12.367	-	*	INDETERMINADO
45	LIV17-0212	Virion-serion	23.522	-	*	POSITIVO
46	LIV17-0227	Virion-serion	20.899	-	*	POSITIVO
47	LIV17-0238	Virion-serion	503.652	+	*	POSITIVO
48	LIV17-0242	Virion-serion	1074.875	+	*	POSITIVO
49	LIV17-0252	Virion-serion	177.28	+	*	POSITIVO
50	LIV17-0279	Virion-serion	7.224	-	*	NEGATIVO
51	LIV17-0291	Virion-serion	179.87	+	*	POSITIVO
52	LIV17-0292	Virion-serion	780319.72	+	*	POSITIVO
53	LIV17-0294	Virion-serion	70.178	+	*	POSITIVO
54	LIV17-0297	Virion-serion	60.211	-	*	POSITIVO
55	LIV17-0319	Virion-serion	350.132	+	*	POSITIVO
56	LIV17-0408	Virion-serion	88.742	-	*	POSITIVO
57	LIV17-0412	Virion-serion	22.995	-	*	POSITIVO
58	LIV17-0424	Virion-serion	270.746	+	*	POSITIVO
59	LIV17-0426	Virion-serion	133.826	+	*	POSITIVO
60	LIV17-0432	Virion-serion	151.076	+	*	POSITIVO
61	LIV17-0434	Virion-serion	24.492	-	*	POSITIVO
62	LIV17-0447	Virion-serion	186.537	+	*	POSITIVO
63	LIV17-0507	Virion-serion	0.001	-	*	NEGATIVO
64	LIV17-0508	Virion-serion	207.554	+	*	POSITIVO
65	LIV17-0511	Virion-serion	3.186	-	*	NEGATIVO
66	LIV17-0515	Virion-serion	4.624	-	*	NEGATIVO
67	LIV17-0518	Virion-serion	3.786	-	*	NEGATIVO

68	LIV17-0519	Virion-serion	780319.72	+	*	POSITIVO
69	LIV17-0527	Virion-serion	103.031	+	*	POSITIVO
70	LIV17-0534	Virion-serion	5.223	-	*	NEGATIVO
71	LIV17-0535	Virion-serion	5177.022	+	*	POSITIVO
72	LIV17-0536	Virion-serion	0.878	-	*	NEGATIVO
73	LIV17-0553	Virion-serion	1.86	-	*	NEGATIVO
74	LIV17-0554	Virion-serion	9.867	-	*	NEGATIVO
75	LIV17-0557	Virion-serion	2.585	-	*	NEGATIVO
76	LIV17-0558	Virion-serion	1.454	-	*	NEGATIVO
77	LIV17-0560	Virion-serion	244.292	+	*	POSITIVO
78	LIV17-0569	Virion-serion	0.627	-	*	NEGATIVO
79	LIV17-0572	Virion-serion	2.626	-	*	NEGATIVO
80	LIV17-0583	Virion-serion	0.753	-	*	NEGATIVO
81	LIV17-0584	Virion-serion	3.905	-	*	NEGATIVO
82	LIV17-0586	Virion-serion	2.304	-	*	NEGATIVO
83	LIV17-0588	Virion-serion	159.877	+	*	POSITIVO
84	LIV17-0628	Virion-serion	0.001	-	*	NEGATIVO
85	LIV17-0644	Virion-serion	60.299	+	*	POSITIVO
86	LIV17-0675	Virion-serion	0.795	-	*	NEGATIVO
87	LIV17-0683	Virion-serion	0.001	-	*	NEGATIVO
88	LIV17-0699	Virion-serion	200.005	+	*	POSITIVO
89	LIV17-0700	Virion-serion	780319.72	+	*	POSITIVO
90	LIV17-0726	Virion-serion	0.92	-	*	NEGATIVO
91	LIV17-0742	Virion-serion	2.626	-	*	NEGATIVO
92	LIV17-0744	Virion-serion	3.426	-	*	NEGATIVO
93	LIV17-0782	Virion-serion	213.043	+	*	POSITIVO
94	LIV17-0816	Virion-serion	56.095	+	*	POSITIVO
95	LIV17-0820	Virion-serion	590.3	+	*	POSITIVO
96	LIV17-0824	Virion-serion	2345.962	+	*	POSITIVO
97	LIV17-0863	Virion-serion	99.543	+	*	POSITIVO
98	LIV17-0864	Virion-serion	311.109	+	*	POSITIVO
99	LIV17-0908	Virion-serion	67.624	+	*	POSITIVO
100	LIV17-0915	Virion-serion	125.631	+	*	POSITIVO
101	LIV17-0940	Virion-serion	56.855	+	*	POSITIVO
102	LIV17-0941	Virion-serion	13.464	-	*	INDETERMINADO

103	LIV17-1000	Virion-serion	44.851	+	*	POSITIVO
104	LIV17-1020	Virion-serion	23.418	-	*	POSITIVO
105	LIV17-1028	Virion-serion	780319.72	+	*	POSITIVO
106	LIV17-1032	Virion-serion	62.329	+	*	POSITIVO
107	LIV17-1048	Virion-serion	165.726	-	*	POSITIVO
108	LIV17-1112	Virion-serion	32.264	-	*	POSITIVO
109	LIV17-1133	Virion-serion	18.145	-	*	POSITIVO
110	LIV17-1137	Virion-serion	23.788	+	*	POSITIVO
111	LIV17-1153	Virion-serion	24.249	-	*	POSITIVO
112	LIV17-1207	Virion-serion	40.7	-	*	POSITIVO
113	LIV17-1208	Virion-serion	6.184	-	*	NEGATIVO
114	LIV17-1238	Virion-serion	6.762	-	*	NEGATIVO

Anexo 7. Verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos, falsos negativos, sensibilidad y especificidad de los diferentes puntos de corte obtenidos en el análisis de curva ROC del test diagnóstico SERION ELISA classic Dengue Virus IgM.

Análisis ROC:											
IgM (U/ml)	S	LI (95%)	LS (95%)	E	LI (95%)	LS (95%)	VP	VN	FP	FN	S + E
0.001	1.000	0.923	1.000	0.053	0.013	0.151	57	3	54	0	1.053
0.372	1.000	0.923	1.000	0.070	0.024	0.173	57	4	53	0	1.070
0.627	1.000	0.923	1.000	0.088	0.035	0.195	57	5	52	0	1.088
0.753	1.000	0.923	1.000	0.105	0.046	0.216	57	6	51	0	1.105
0.795	1.000	0.923	1.000	0.123	0.059	0.237	57	7	50	0	1.123
0.878	1.000	0.923	1.000	0.140	0.071	0.257	57	8	49	0	1.140
0.920	1.000	0.923	1.000	0.158	0.084	0.277	57	9	48	0	1.158
1.454	1.000	0.923	1.000	0.175	0.097	0.296	57	10	47	0	1.175
1.860	1.000	0.923	1.000	0.193	0.110	0.316	57	11	46	0	1.193
2.304	1.000	0.923	1.000	0.211	0.124	0.335	57	12	45	0	1.211
2.585	1.000	0.923	1.000	0.228	0.138	0.354	57	13	44	0	1.228
2.626	1.000	0.923	1.000	0.263	0.166	0.391	57	15	42	0	1.263
3.186	1.000	0.923	1.000	0.281	0.181	0.410	57	16	41	0	1.281
3.258	1.000	0.923	1.000	0.298	0.195	0.428	57	17	40	0	1.298
3.426	1.000	0.923	1.000	0.316	0.210	0.446	57	18	39	0	1.316
3.450	1.000	0.923	1.000	0.333	0.225	0.463	57	19	38	0	1.333
3.690	1.000	0.923	1.000	0.351	0.240	0.481	57	20	37	0	1.351
3.786	1.000	0.923	1.000	0.368	0.255	0.499	57	21	36	0	1.368
3.905	1.000	0.923	1.000	0.386	0.271	0.516	57	22	35	0	1.386
4.624	1.000	0.923	1.000	0.404	0.286	0.533	57	23	34	0	1.404
5.223	1.000	0.923	1.000	0.421	0.302	0.550	57	24	33	0	1.421
6.184	1.000	0.923	1.000	0.439	0.318	0.567	57	25	32	0	1.439
6.762	1.000	0.923	1.000	0.456	0.334	0.584	57	26	31	0	1.456
6.802	1.000	0.923	1.000	0.474	0.350	0.601	57	27	30	0	1.474
7.153	1.000	0.923	1.000	0.491	0.366	0.617	57	28	29	0	1.491
7.224	1.000	0.923	1.000	0.509	0.383	0.634	57	29	28	0	1.509
8.706	1.000	0.923	1.000	0.526	0.399	0.650	57	30	27	0	1.526
9.867	1.000	0.923	1.000	0.544	0.416	0.666	57	31	26	0	1.544
12.367	1.000	0.923	1.000	0.561	0.433	0.682	57	32	25	0	1.561

13.464	1.000	0.923	1.000	0.579	0.450	0.698	57	33	24	0	1.579
13.865	1.000	0.923	1.000	0.596	0.467	0.714	57	34	23	0	1.596
13.967	1.000	0.923	1.000	0.614	0.484	0.729	57	35	22	0	1.614
14.781	1.000	0.923	1.000	0.632	0.501	0.745	57	36	21	0	1.632
15.838	1.000	0.923	1.000	0.649	0.519	0.760	57	37	20	0	1.649
16.590	1.000	0.923	1.000	0.667	0.537	0.775	57	38	19	0	1.667
16.968	1.000	0.923	1.000	0.684	0.554	0.790	57	39	18	0	1.684
18.145	1.000	0.923	1.000	0.702	0.572	0.805	57	40	17	0	1.702
20.899	1.000	0.923	1.000	0.719	0.590	0.819	57	41	16	0	1.719
22.083	1.000	0.923	1.000	0.737	0.609	0.834	57	42	15	0	1.737
22.995	1.000	0.923	1.000	0.754	0.627	0.848	57	43	14	0	1.754
23.418	1.000	0.923	1.000	0.772	0.646	0.862	57	44	13	0	1.772
23.522	1.000	0.923	1.000	0.789	0.665	0.876	57	45	12	0	1.789
23.548	0.982	0.897	1.000	0.789	0.665	0.876	56	45	12	1	1.772
23.788	0.965	0.872	0.997	0.789	0.665	0.876	55	45	12	2	1.754
24.249	0.965	0.872	0.997	0.807	0.684	0.890	55	46	11	2	1.772
24.492	0.965	0.872	0.997	0.825	0.704	0.903	55	47	10	2	1.789
32.264	0.965	0.872	0.997	0.842	0.723	0.916	55	48	9	2	1.807
35.881	0.947	0.849	0.987	0.842	0.723	0.916	54	48	9	3	1.789
39.318	0.947	0.849	0.987	0.860	0.743	0.929	54	49	8	3	1.807
40.149	0.947	0.849	0.987	0.877	0.763	0.941	54	50	7	3	1.825
40.700(*)	0.947	0.849	0.987	0.895	0.784	0.954	54	51	6	3	1.842
41.064	0.930	0.827	0.976	0.895	0.784	0.954	53	51	6	4	1.825
44.851	0.912	0.805	0.965	0.895	0.784	0.954	52	51	6	5	1.807
47.843	0.895	0.784	0.954	0.895	0.784	0.954	51	51	6	6	1.789
51.767	0.877	0.763	0.941	0.895	0.784	0.954	50	51	6	7	1.772
56.095	0.860	0.743	0.929	0.895	0.784	0.954	49	51	6	8	1.754
56.855	0.842	0.723	0.916	0.895	0.784	0.954	48	51	6	9	1.737
60.211	0.842	0.723	0.916	0.912	0.805	0.965	48	52	5	9	1.754
60.299	0.825	0.704	0.903	0.912	0.805	0.965	47	52	5	10	1.737
62.329	0.807	0.684	0.890	0.912	0.805	0.965	46	52	5	11	1.719
63.478	0.789	0.665	0.876	0.912	0.805	0.965	45	52	5	12	1.702
64.653	0.772	0.646	0.862	0.912	0.805	0.965	44	52	5	13	1.684
66.222	0.772	0.646	0.862	0.930	0.827	0.976	44	53	4	13	1.702
67.624	0.754	0.627	0.848	0.930	0.827	0.976	43	53	4	14	1.684
70.178	0.737	0.609	0.834	0.930	0.827	0.976	42	53	4	15	1.667
80.657	0.719	0.590	0.819	0.930	0.827	0.976	41	53	4	16	1.649
86.268	0.719	0.590	0.819	0.947	0.849	0.987	41	54	3	16	1.667

88.742	0.719	0.590	0.819	0.965	0.872	0.997	41	55	2	16	1.684
98.564	0.702	0.572	0.805	0.965	0.872	0.997	40	55	2	17	1.667
99.543	0.684	0.554	0.790	0.965	0.872	0.997	39	55	2	18	1.649
103.031	0.667	0.537	0.775	0.965	0.872	0.997	38	55	2	19	1.632
103.373	0.649	0.519	0.760	0.965	0.872	0.997	37	55	2	20	1.614
110.889	0.632	0.501	0.745	0.965	0.872	0.997	36	55	2	21	1.596
125.631	0.614	0.484	0.729	0.965	0.872	0.997	35	55	2	22	1.579
133.826	0.596	0.467	0.714	0.965	0.872	0.997	34	55	2	23	1.561
134.579	0.579	0.450	0.698	0.965	0.872	0.997	33	55	2	24	1.544
139.097	0.561	0.433	0.682	0.965	0.872	0.997	32	55	2	25	1.526
151.076	0.544	0.416	0.666	0.965	0.872	0.997	31	55	2	26	1.509
157.204	0.526	0.399	0.650	0.965	0.872	0.997	30	55	2	27	1.491
159.877	0.509	0.383	0.634	0.965	0.872	0.997	29	55	2	28	1.474
165.726	0.509	0.383	0.634	0.982	0.897	1.000	29	56	1	28	1.491
172.867	0.509	0.383	0.634	1.000	0.923	1.000	29	57	0	28	1.509
173.807	0.491	0.366	0.617	1.000	0.923	1.000	28	57	0	29	1.491
177.280	0.474	0.350	0.601	1.000	0.923	1.000	27	57	0	30	1.474
179.870	0.456	0.334	0.584	1.000	0.923	1.000	26	57	0	31	1.456
181.930	0.439	0.318	0.567	1.000	0.923	1.000	25	57	0	32	1.439
182.327	0.421	0.302	0.550	1.000	0.923	1.000	24	57	0	33	1.421
186.537	0.404	0.286	0.533	1.000	0.923	1.000	23	57	0	34	1.404
200.005	0.386	0.271	0.516	1.000	0.923	1.000	22	57	0	35	1.386
207.554	0.368	0.255	0.499	1.000	0.923	1.000	21	57	0	36	1.368
213.043	0.351	0.240	0.481	1.000	0.923	1.000	20	57	0	37	1.351
244.292	0.333	0.225	0.463	1.000	0.923	1.000	19	57	0	38	1.333
270.746	0.316	0.210	0.446	1.000	0.923	1.000	18	57	0	39	1.316
274.683	0.298	0.195	0.428	1.000	0.923	1.000	17	57	0	40	1.298
290.161	0.281	0.181	0.410	1.000	0.923	1.000	16	57	0	41	1.281
311.109	0.263	0.166	0.391	1.000	0.923	1.000	15	57	0	42	1.263
350.132	0.246	0.152	0.373	1.000	0.923	1.000	14	57	0	43	1.246
503.652	0.228	0.138	0.354	1.000	0.923	1.000	13	57	0	44	1.228
590.300	0.211	0.124	0.335	1.000	0.923	1.000	12	57	0	45	1.211
1074.875	0.193	0.110	0.316	1.000	0.923	1.000	11	57	0	46	1.193
1154.599	0.175	0.097	0.296	1.000	0.923	1.000	10	57	0	47	1.175
2345.962	0.158	0.084	0.277	1.000	0.923	1.000	9	57	0	48	1.158
4273.821	0.140	0.071	0.257	1.000	0.923	1.000	8	57	0	49	1.140
5177.022	0.123	0.059	0.237	1.000	0.923	1.000	7	57	0	50	1.123
7068.484	0.105	0.046	0.216	1.000	0.923	1.000	6	57	0	51	1.105

583573.696	0.070	0.024	0.173	1.000	0.923	1.000	4	57	0	53	1.070
780319.720	0.000	0.000	0.077	1.000	0.923	1.000	0	57	0	57	1.000
<i>La prueba es positiva si IgM > al valor umbral</i>											

LS = Límite superior

LI = Límite inferior

S = Sensibilidad

E = Especificidad

VP = Verdaderos positivos

VN = Verdaderos negativos

FP = Falsos positivos

FN = Falsos negativos

IgM = Concentración de Anticuerpos Dengue IgM

(*) = En amarillo: Punto de corte óptimo que determina la sensibilidad y especificidad conjunta más alta.