

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23 de la Resolución N° 13 DE JULIO DE 1946

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajo de tesis. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

## **TABLA DE CONTENIDO**

### **1. RESUMEN**

### **2. INTRODUCCION**

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

### **4. MARCO TEÓRICO Y REFERENTES CONCEPTUALES**

#### **4.1 FIEBRES ICTEROHEMORRÁGICAS**

- 4.1.1 Dengue
- 4.1.2 Fiebre amarilla
- 4.1.3 Leptospirosis
- 4.1.4 Rickettsiosis
- 4.1.5 Malaria

#### **4.2 REVISIONES SISTEMÁTICAS DE LA LITERATURA**

- 4.2.1 Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA).
- 4.2.2 Evaluación de la calidad metodológica

### **5. OBJETIVOS**

#### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

#### **5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

### **6. METODOLOGÍA**

#### **6.1 BÚSQUEDA DE LA LITERATURA**

- 6.1.1 Criterios de inclusión
  - 6.1.1.1 Tipos de estudio
  - 6.1.1.2 Tipos de participantes
  - 6.1.1.3 Tipos de intervenciones y comparaciones
  - 6.1.1.4 Tipos de desenlaces
  - 6.1.1.5 Año de publicación
  - 6.1.1.6 Idioma de publicación
- 6.1.2 Criterios de exclusión
- 6.1.3 Fuentes de información
- 6.1.4 Estrategias de búsqueda

## **6.2 EXTRACCIÓN DE LOS DATOS**

## **6.3 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA**

# **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **7.1 ESTUDIOS SELECCIONADOS**

- 7.1.1 Estudios seleccionados para dengue
- 7.1.2 Estudios seleccionados para fiebre amarilla
- 7.1.3 Estudios seleccionados para leptospirosis
- 7.1.4 Estudios seleccionados para rickettsiosis
- 7.1.5 Estudios seleccionados para malaria

## **7.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS**

- 7.2.1 Dengue
- 7.2.2 Fiebre Amarilla
- 7.2.3 Leptospirosis
- 7.2.4 Rickettsiosis
- 7.2.5 Malaria

## **7.3 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD METODOLÓGICA**

- 7.3.1 Dengue
- 7.3.2 Fiebre Amarilla
- 7.3.3 Leptospirosis
- 7.3.4 Rickettsiosis
- 7.3.5 Malaria

## **7.4 LIMITACIONES**

# **8. CONCLUSIONES**

# **9. RECOMENDACIONES**

# **10. BIBLIOGRAFIA**

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Ítems para la evaluación de la calidad metodológica de los artículos.

**Tabla 2.** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico del virus del dengue.

**Tabla 3** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico del virus de la fiebre amarilla.

**Tabla 4** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico de leptospirosis.

**Tabla 5** Pruebas de diagnóstico reportadas para diagnóstico de rickettsiosis.

**Tabla 6** Pruebas de diagnóstico reportadas para diagnóstico de malaria.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Proceso de selección de estudios para determinar estado actual de pruebas de laboratorio para diagnóstico de dengue.
- Figura 2.** Proceso de selección de estudios para determinar estado actual de pruebas de laboratorio para diagnóstico de fiebre amarilla.
- Figura 3.** Proceso de selección de estudios para determinar estado actual de pruebas de laboratorio para diagnóstico de leptospirosis.
- Figura 4.** Proceso de selección de estudios para determinar estado actual de pruebas de laboratorio para diagnóstico de rickettsiosis.
- Figura 5.** Proceso de selección de estudios para determinar estado actual de pruebas de laboratorio para diagnóstico de malaria.
- Figura 6.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para dengue.
- Figura 7.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para fiebre amarilla.
- Figura 8.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para leptospirosis.
- Figura 9.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para rickettsiosis.
- Figura 10.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para malaria.

# **ESTADO ACTUAL DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS POR LABORATORIO PARA FIEBRES ICTEROHEMORRÁGICAS: REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA**

## **1. RESUMEN**

Las fiebres icterohemorrágicas constituyen un conjunto de enfermedades que afectan principalmente a poblaciones ubicadas en regiones tropicales. Al tener manifestaciones clínicas muy similares entre sí, se dificulta considerablemente su diagnóstico etiológico. El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión sistemática de la literatura, que describa el estado actual de pruebas de laboratorio usadas para el diagnóstico de las fiebres icterohemorrágicas (dengue, fiebre amarilla, leptospirosis, rickettsiosis y malaria), evaluando paralelamente las características y factores que influyen directamente en su rendimiento.

La búsqueda de estudios útiles sobre los métodos diagnósticos de dengue, fiebre amarilla, malaria, leptospirosis y rickettsiosis, se realizó en las siguientes bases de datos: Cochrane, Pubmed, Lilacs, SCIELO, ScienceDirect (Elsevier). También se obtuvieron datos de expertos en el tema y se realizaron listas de chequeo, para disminuir el sesgo de selección de artículos científicos; posteriormente; se evaluó la calidad metodológica de los estudios mediante el software RevMan 5.

Se comprobó que las condiciones geográficas, las de la población, las de la muestra y las del microorganismo propiamente dicho, influyen directamente en el rendimiento de las pruebas diagnósticas. En el caso de la infección por virus del dengue, su confirmación acertada depende de la determinación de NS1 e IgM. Respecto a fiebre amarilla, se detectó un déficit en los reportes de sus pruebas diagnósticas, lo que sugiere realizar más estudios en esta área. Por otro lado, en la leptospirosis el diagnóstico puede realizarse a través de ELISA IgM, teniendo en cuenta sus limitaciones y asociando siempre sus resultados con el patrón de oro (MAT). En cuanto al diagnóstico de la rickettsiosis, puede ser realizado por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y teniendo en cuenta los métodos moleculares fundamentales para la detección de la especie causal. Por último, para el diagnóstico de malaria, el patrón de oro sigue siendo fundamental para su confirmación y, pruebas alternas como las pruebas rápidas, deben seleccionarse según regiones geográficas.

## **2. INTRODUCCIÓN**

Las fiebres icterohemorrágicas constituyen un conjunto de enfermedades ocasionadas por diferentes agentes etiológicos, que incluyen parásitos, virus y bacterias. Estas enfermedades cursan con manifestaciones clínicas comunes e inespecíficas tales como ictericia, fiebre, alteraciones hemorrágicas, exantemas, mialgias y artralgias, entre otras (1). Las enfermedades más conocidas dentro del síndrome icterohemorrágico son el dengue, la fiebre amarilla, la malaria, la leptospirosis y la rickettsiosis. Estas patologías se presentan principalmente en zonas tropicales, en donde las condiciones ambientales favorecen la existencia y viabilidad tanto de los microorganismos causales, como de sus vectores, los cuales son indispensables para su transmisión (1).

El diagnóstico diferencial de las fiebres icterohemorrágicas exige un reto para el clínico (2), por lo que es necesario complementar su diagnóstico presuntivo, basado en la sintomatología del paciente, con pruebas de laboratorio que resultan fundamentales para

soportar un diagnóstico definitivo de cualquiera de los agentes etiológicos de las fiebres icterohemorrágicas (1).

La literatura científica en los últimos años, ha reportado la existencia de múltiples pruebas de laboratorio para el diagnóstico de dengue, fiebre amarilla, malaria, leptospirosis y rickettsiosis; sin embargo, dentro de estas pruebas, se ha determinado un amplio espectro de variabilidad entre sus características operativas, lo cual junto con el bajo rendimiento de algunos patrones de oro (*gold standard*) utilizados para el diagnóstico de cada una de las patologías, hacen necesario revisar el estado actual de dichas pruebas (3).

Frente al aumento de publicaciones acerca de nuevas pruebas diagnósticas para fiebres icterohemorrágicas, se requiere resumir la información relacionada con las fortalezas, las debilidades y las variables de sus características operativas, de manera que el profesional de la salud disponga de datos actualizados y pueda adoptar y utilizar pruebas según el contexto en que se encuentre.

Para que la compilación de un tema de salud sea útil en la toma de decisiones dentro de la práctica clínica, necesita cumplir con ciertas características, como son, disponer de la totalidad de la información existente al respecto; contar con unos criterios de inclusión y exclusión que limiten la información a la potencialmente útil para el estudio y desarrollar el análisis dentro del marco de un estudio epidemiológico secundario, el cual se denomina revisión sistemática de la literatura.

Las revisiones sistemáticas recopilan toda la investigación sobre un tema determinado y bajo una evaluación crítica de estudios primarios (casos y controles, cohortes, diseños experimentales y diseños descriptivos) y permiten obtener desenlaces basadas en una medida global, es decir, conclusiones derivadas a partir del análisis total de la información utilizada para la revisión sistemática (4). Adicionalmente, es posible realizar un resumen completo de la información en un solo valor numérico, mediante un metaanálisis, ya que esta aplicación estadística, aumenta la precisión del estimador puntual que se determina (5).

Debido a la ausencia de este tipo de revisiones relacionadas con pruebas diagnósticas para fiebres icterohemorrágicas, el objetivo general del presente estudio, es desarrollar una revisión sistemática de la literatura, que describa el estado actual de pruebas de laboratorio usadas para el diagnóstico de dengue, fiebre amarilla, leptospirosis, rickettsiosis y malaria, considerando la influencia de los factores geográficos y ambientales en estas patologías.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

Las manifestaciones clínicas de las fiebres icterohemorrágicas son muy similares, lo que dificulta el diagnóstico sin importar la etiología (dengue, fiebre amarilla, leptospirosis, rickettsiosis y malaria) (6,7,8,9).

En cuanto al diagnóstico de la infección por virus dengue, la prueba de oro consiste en la detección de anticuerpos de clase IgM específicos contra el virus a través de un ensayo inmunoenzimático de captura (ELISA); también se puede realizar el diagnóstico por seroconversión (diferencia mayor o igual a cuatro títulos entre la muestra tomada en fase aguda y la muestra tomada en fase convaleciente) (10). Para llevar a cabo el diagnóstico de fiebre amarilla, se utiliza como patrón estándar la detección de anticuerpos IgM

específicos contra el virus (8); además se usan la fijación de complemento, el cultivo celular y las detecciones moleculares (11); sin embargo, en el caso de la detección de anticuerpos de clase IgM contra el virus de la fiebre amarilla, su determinación es viable sólo días después del inicio de la sintomatología; entre más tiempo de evolución de la enfermedad, más se favorece la reactividad cruzada entre flavivirus, como lo son el dengue y la fiebre amarilla (12).

Para el diagnóstico de la leptospirosis, se utiliza como prueba de oro el test de aglutinación microscópica (MAT), el cual consiste en la determinación de anticuerpos anti-leptospira en suero, utilizando como antígeno leptospiras vivas (13); además, se puede realizar diagnóstico por cultivo de la bacteria y ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos de clase IgM. El test de aglutinación microscópica (MAT) es muy complejo, ya que tiene diversas variaciones en sus características operativas y cuenta con múltiples variables que deben ser controladas, además de su montaje, desarrollo e interpretación (13). En la rickettsiosis la prueba de oro es la inmunofluorescencia indirecta (IFI) (7), en la cual se determinan anticuerpos de clase IgM o IgG. El diagnóstico se realiza cuando hay una seroconversión en muestras pareadas (diferencia mayor o igual a cuatro títulos entre la muestra tomada en fase aguda y la muestra tomada en fase convaleciente). Este patrón estándar tiene un rendimiento operativo variable debido a que presenta reacciones cruzadas entre las diferentes especies de rickettsias (14). Otros métodos diagnósticos abordan cultivos celulares, pruebas moleculares, e inmunohistoquímica. Para malaria la prueba de oro es la gota gruesa, la cual permite la visualización del *Plasmodium spp* en sangre periférica, sin embargo,

se estima que su sensibilidad varía según la especie y condiciones geográficas, alcanzando un máximo del 75% (15). Otros métodos diagnósticos para malaria son las pruebas rápidas de diagnóstico (PDRs), las cuales están dirigidas contra antígenos específicos del parásito (15).

Pese a que existen múltiples pruebas diagnósticas como las mencionadas previamente para cada una de las fiebres icterohemorrágicas, no se conoce su rendimiento de forma detallada, dada la presencia de factores que influyen en sus características operativas, tales como el ambiente, la temperatura y las condiciones del paciente, entre otros, los cuales son determinantes a la hora de realizar la elección de una prueba de laboratorio; por lo tanto, se hace necesaria la obtención de información actualizada acerca del estado de las pruebas diagnósticas que además considere todos los factores (sean propios de la prueba o externos) que modifican su rendimiento. Para el logro de este objetivo, las revisiones sistemáticas constituyen el diseño de investigación más idóneo a seguir, pues generalizan los resultados obtenidos a partir de estudios individuales, a la vez que permiten demostrar la falta de evidencia adecuada en un tema e identificar las áreas en que se requieren más estudios (4).

Para el caso particular de las pruebas que diagnostican fiebres icterohemorrágicas, es importante el desarrollo de una revisión sistemática de la literatura, que provea factores y características determinantes en la elección y uso de las pruebas, ya que se ha detectado una incidencia creciente de estas patologías a nivel mundial (9). Para el caso específico de Colombia, por ubicarse en una zona tropical, su población tiene un mayor riesgo de morbi-mortalidad frente a estas enfermedades, lo que hace indispensable contar con un estudio de esta índole, que permita obtener resultados aplicables a la práctica clínica.



## 4. MARCO TEÓRICO Y REFERENTES CONCEPTUALES

### 4.1 FIEBRES ICTEROHEMORRÁGICAS

#### 4.1.1 Dengue

El dengue es una enfermedad viral de carácter endémico-epidémico transmitida por los mosquitos del género *Aedes*, principalmente *Aedes aegypti* (14). Actualmente es la arbovirosis más importante a nivel mundial en términos de morbilidad, mortalidad e impacto económico (10). El virus del dengue es un *Flavivirus* ARN, con cuatro serotipos del DEN-1 al DEN-4. Esta enfermedad puede cursar de dos formas: fiebre del dengue y dengue grave (14).

Entre las manifestaciones clínicas del dengue se encuentran: fiebre de inicio súbito, cefalea, exantema, dolor retroocular, manifestaciones hemorrágicas, mialgias y artralgias. En casos más severos, como en el dengue grave, puede haber evidencia de falla circulatoria, hipotensión, falla hepática, miocarditis, entre otros (10).

La incidencia a nivel mundial del dengue en la última década ha aumentado considerablemente (16). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que al año hay entre 50 y 100 millones de casos de dengue a nivel mundial y que alrededor de 2.5 billones de personas (40% de la población mundial) se encuentran en riesgo de padecer la enfermedad (17). Es probable que los casos de infección por dengue sean muchos más que los observados en las prevalencias registradas, pues se cree que aproximadamente sólo el 10% de los casos sintomáticos son reportados (16).

En Colombia, el comportamiento del dengue ha mostrado un evidente aumento en las últimas dos décadas. Durante los años 90 se notificaban en promedio 30.000 casos y en el año 2000 se incrementaron a 55.000. En la actualidad, hasta la semana epidemiológica 5 de 2014, se notificaron 11.171 casos totales de dengue, los cuales en comparación con los del año pasado con corte a la misma semana, han aumentado en un 21% (18).

A causa del incremento en las tasas de incidencia del dengue en los últimos años, es importante un diagnóstico acertado y eficiente para el cuidado del paciente, la vigilancia y control, los estudios de patogénesis y la investigación, así como para la confirmación o el establecimiento de un diagnóstico diferencial, con otras entidades clínicas similares en sintomatología, como la leptospirosis y otras infecciones por flavivirus (19).

Para diagnosticar la infección por virus dengue se pueden realizar métodos como: aislamiento del virus, estudios moleculares y estudios serológicos, siendo estos últimos los más utilizados actualmente en el diagnóstico de rutina (19). Los datos clínicos, geográficos y epidemiológicos propios del paciente, son fundamentales para la interpretación de un resultado de laboratorio.

El patrón estándar para el diagnóstico del dengue es la detección en suero de inmunoglobulina M específica mediante un ensayo ELISA de captura. Además del patrón de referencia, el aislamiento del virus acoplado a inmunofluorescencia, es una técnica efectiva para el diagnóstico temprano del dengue; sin embargo, es laboriosa y posee una alta sensibilidad únicamente en los primeros cinco días posteriores a la infección (20). Las pruebas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR), han probado tener una alta sensibilidad (21) y por tanto, se han

implementado como método diagnóstico alternativo tanto al aislamiento viral, como a las pruebas serológicas; sin embargo, a causa del requerimiento de equipo especializado y la dificultad en la estandarización de los procedimientos, se ha limitado su utilidad en países con recursos económicos bajos (22).

En los últimos años, la proteína no estructural 1 (NS1), la cual se determina a través de un test de ELISA, ha sido identificada como un marcador serológico temprano para diagnosticar infecciones tanto primarias como secundarias. La proteína NS1 está presente entre los días 1 al 9 después del inicio de la sintomatología con un pico entre los días 3 y 5 (23).

En ocasiones, la evolución hacia manifestaciones graves de la enfermedad puede presentarse de forma rápida, lo cual justifica el diagnóstico temprano con el fin de mejorar el desenlace de la enfermedad oportunamente (24).

#### **4.1.2 Fiebre amarilla**

La fiebre amarilla es una enfermedad de comportamiento agudo causada por un virus que pertenece a la familia *Flaviridae* (12); sin embargo, puede cursar como una enfermedad asintomática detectable únicamente por pruebas de laboratorio. Al tener dos contextos ecológicos de la enfermedad, selvático y urbano, posee vectores diferentes. En el primer caso se encuentran *Haemagogus jantinomys*, *Sabethes* y en el segundo, el vector principal es *Aedes aegypti* (8). En la actualidad no existe tratamiento curativo para la fiebre amarilla, ni se dispone de medicamentos antivirales que puedan ser utilizados para atenuar la sintomatología (8). La vacunación es la medida preventiva más eficaz (14).

Entre las manifestaciones clínicas más comunes de la fiebre amarilla se encuentran: fiebre de comienzo súbito, hemorragias en mucosas o en tracto digestivo e ictericia en las dos semanas siguientes (8). En este caso particular, es importante determinar si la persona está vacunada o no contra la fiebre amarilla.

Entre Latinoamérica y África se encuentran la mayor cantidad de países en los cuales la fiebre amarilla es endémica. En África, 508 millones de personas se encuentran bajo riesgo, mientras que en 13 países de América Latina (principalmente en Bolivia, Colombia y Perú), el riesgo también es alto. Para fiebre amarilla hay un estimado anual de 200.000 casos a nivel mundial, de los cuales se generan alrededor de 30.000 muertes (25). El comportamiento de la fiebre amarilla en Colombia indica que desde 1934 se confirman casos todos los años con un promedio aproximado de 20 por año (8).

La fiebre amarilla es de difícil diagnóstico clínico, debido a que los síntomas son similares a patologías como el dengue, leptospirosis, hepatitis viral, malaria y otras enfermedades hemorrágicas causadas por virus (25); por tanto, su confirmación por laboratorio es esencial. La Organización Mundial de la Salud (OMS)(26) determina como patrón estándar, la detección de IgM específica, el incremento en cuatro títulos o más del anticuerpo clase IgG en muestras pareadas (seroconversión) en ausencia de inmunización contra fiebre amarilla y el diagnóstico negativo para otros flavivirus; sin embargo, la confirmación formal de la infección requiere de detección por métodos inmunohistoquímicos, detección mediante biología molecular, o un test de viremia que genere un cultivo positivo para virus de la fiebre amarilla (27).

La reacción cruzada con otros flavivirus constituye el principal obstáculo a la hora de confirmar un diagnóstico, especialmente en regiones endémicas donde circulan varios tipos (Dengue, virus del Nilo occidental, encefalitis de San Luis, entre otros) (27).

### 4.1.3 Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana que afecta tanto a humanos como a animales. En humanos se da por el ingreso de la bacteria a través de heridas, abrasiones en la piel, o lesiones en las mucosas de ojos, boca y nariz (28). Su agente etiológico está constituido por un grupo de bacterias de la familia *Leptospiraceae* género *Leptospira*. En la actualidad se han descrito más de 17 especies de *Leptospira* patógenas y saprófitas (29).

Un cuadro clínico sugestivo de leptospirosis se define como: Toda persona con fiebre de 7 días o más de duración, dolor muscular en muslos y pantorrillas, cefalea, escalofríos, congestión conjuntival bilateral, alteraciones en el estado de consciencia (confusión o depresión), con o sin ictericia y náuseas, vómitos o dolor abdominal (30).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la incidencia verdadera de la leptospirosis se desconoce, debido a que se dificulta su diferenciación por parámetros clínicos y a la falta de servicios apropiados para su diagnóstico (29). Se estima que alrededor de 0.1 a 1 persona por cada 100.000 habitantes de climas templados, son afectados anualmente y, en climas tropicales de 10 o más por cada 100.000 habitantes. Si hay una epidemia, estos valores pueden aumentar de 100 personas o más por cada 100.000 habitantes (29). También existe una asociación entre la aparición de brotes y las lluvias (31).

Los datos reportados en Colombia durante el 2013, arrojaron que hasta la semana epidemiológica 52, se notificaron al Sivigila (31) un total de 2.263 casos confirmados de leptospirosis, calculando así una incidencia de 1,7 casos por cada 100.000 habitantes. En lo corrido del presente año hasta la semana epidemiológica 5, se han reportado 256 casos, lo que respecto al mismo periodo del año pasado, evidencia un incremento del 21.32% (18).

El patrón de oro para el diagnóstico de leptospirosis es la prueba de microaglutinación (MAT), aunque tiende a tornarse positiva 7 días después del comienzo de los síntomas (32) y además, requiere de profesional entrenado, o de la asistencia de un centro de referencia especializado. Otros métodos diagnósticos incluyen el cultivo a partir de sangre, pruebas moleculares y serológicas en muestras pareadas. Se han descrito varios métodos comerciales para la detección de anticuerpos, tales como ELISA y dipstick, los cuales permiten la detección de anticuerpos IgM específicos contra *Leptospira spp*, utilizando como antígeno serovares no patógenos, limitando su sensibilidad y especificidad respecto al patrón de oro (33).

Hacer un diagnóstico preciso de la leptospirosis, contribuye tanto a la caracterización epidemiológica de la enfermedad como al cuidado y tratamiento de los pacientes, pues éste debe iniciar dentro de los cinco días siguientes a partir del comienzo de los síntomas. De no recibir terapia antibiótica oportuna en las formas graves de leptospirosis, los desenlaces podrían ser fatales (34). Un diagnóstico definitivo puede ayudar a la identificación de brotes y al establecimiento de factores de riesgo útiles en la creación de intervenciones en salud pública (35).

#### 4.1.4 Rickettsiosis

La rickettsiosis es una entidad de tipo zoonótico causada por bacterias intracelulares de los géneros *Rickettsia* y *Orientia* pertenecientes a la familia *Rickettsiaceae* (36). Éstas son transmitidas por artrópodos hematófagos como las garrapatas, piojos, pulgas y ácaros (37). *R. rickettsi* es la más patógena del género (38) cuyo vector principal para Suramérica son las garrapatas de la especie *Amblyoma cajennense* (39). Este género bacteriano se divide en cuatro grandes grupos: el Tifus, el de las Fiebres Manchadas, el Transicional y el Ancestral; excepto el último, todos ellos albergan especies que representan microorganismos patógenos de importancia para el ser humano (40).

Respecto a la fisiopatología de la rickettsiosis, se caracteriza por ser una vasculitis de pequeños y medianos vasos, siendo las células endoteliales el blanco de invasión por parte de estos microorganismos. Clínicamente se comportan como un cuadro febril agudo asociado a malestar general, mialgias, artralgias y cefalea; en algunos casos, suelen presentarse manifestaciones dermatológicas de tipo exantemático y una lesión costrosa-necrótica (escara de inoculación) (40). Algunas de estas enfermedades son potencialmente mortales como las causadas por *R. rickettsi* y *R. prowazekii* (41). Se pueden presentar otros síntomas inespecíficos como vómito, dolor abdominal y diarrea (42).

Entre el año 2000 y el 2007, sólo en Norte y Centroamérica, se reportaron 11.531 casos de fiebre manchada de las montañas rocosas (rickettsiosis por *R. rickettsi*) (43). En cuanto a tifus epidémico, se ha estimado que 30 millones de casos de tifo ocurrieron en la Unión Soviética y el oriente de Europa entre 1918 y 1922 (44), causando alrededor de 3 millones de muertes. Debido a condiciones en las que existen carencias de recursos básicos de vida, hacinamiento y pobreza, esta enfermedad ha resurgido (45). La mayoría de casos de tifus epidémico se presenta en poblaciones rurales de África y la región central y sur de América (46).

Por otro lado, las manifestaciones clínicas de las rickettsiosis, tanto del grupo del tifus, como el de las fiebres manchadas, son poco específicas, lo que puede llevar a confusión en el diagnóstico etiológico (47). El patrón de referencia para confirmación en laboratorio en este caso, es la inmunofluorescencia indirecta (IFI) al evidenciar seroconversión en las muestras pareadas (7); sin embargo, su sensibilidad es baja en estadios tempranos de la enfermedad, además que presenta reactividad cruzada entre las diferentes especies del género rickettsia, especialmente en las filogenéticamente relacionadas (47). Cabe aclarar que la falta de métodos rápidos de diagnóstico con alta sensibilidad, pueden generar un retraso en el tratamiento, o un diagnóstico erróneo, lo cual podría aumentar la mortalidad (48).

El cultivo debe realizarse únicamente en laboratorios de bioseguridad de nivel 3, por lo cual no todas las entidades de salud lo pueden usar como método diagnóstico alternativo. Por otro lado, los métodos moleculares basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han surgido como herramientas altamente sensibles y específicas, pero no son utilizados rutinariamente ya que requieren equipos y reactivos costosos que no todas las entidades prestadoras de servicios de salud pueden adquirir (49).

#### 4.1.5 Malaria

La malaria es una enfermedad transmitida a través de mosquitos hembras principalmente del género *Anopheles*, que estando infectados inoculan esporozoitos del parásito (forma infectante) en los humanos. Los agentes causales de la malaria son cuatro especies de protozoarios del género *Plasmodium*: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi* (9). En Colombia las especies más frecuentes en zonas endémicas son *P. vivax* y *P. falciparum*.

Entre las manifestaciones clínicas más frecuentes están los episodios febriles (mayores a 38,3 °C), escalofríos y sudoración (50).

En el reporte mundial de malaria del 2012, se muestra que en el 2010 aproximadamente hubo 219 millones de casos y que alrededor de 3.3 billones de personas estuvieron expuestas a padecer la enfermedad. La malaria deja alrededor de 660.000 muertes por año, especialmente en niños menores de cinco años. La transmisión de malaria afecta en la actualidad a 99 países en todo el mundo (51). El comportamiento de la morbilidad por malaria en Colombia, ha mantenido una tendencia ascendente en los últimos 30 años, con promedios de 120.000 a 140.000 casos por año, predominando en cerca de un 60% la infección por *P. vivax* y *P. falciparum* en la costa Pacífica. Entre el año 2000 y 2006 se notificaron 819.182 casos de malaria en el país (18).

El patrón estándar para el diagnóstico de la malaria es la gota gruesa, la cual permite la visualización de los parásitos infectantes de los glóbulos rojos; sin embargo, según la especie, la densidad parasítica cambia afectando la sensibilidad de la prueba. También el tratamiento antimalárico inadecuado, puede generar alteraciones en su rendimiento (52).

Métodos moleculares como la PCR, han probado ser altamente sensibles y específicos (53), pero a causa de sus altos costos, no son utilizados rutinariamente (54). Por otra parte, el uso de pruebas rápidas de diagnóstico (RDTs) se ha incrementado en zonas endémicas de malaria, en las cuales hay carencia de microscopías de alta calidad, constituyéndose actualmente en herramientas esenciales en las campañas de control y erradicación de la malaria (55). No obstante, la amplia variedad de RDTs y su alta variabilidad respecto a condiciones de temperatura, población de referencia, entre otros, hacen que no todas tengan características operativas de alto rendimiento para el diagnóstico de la malaria.

#### 4.2 REVISIONES SISTEMÁTICAS DE LA LITERATURA

Las revisiones sistemáticas son un tipo de estudio secundario que recopila toda literatura existente sobre un tema de interés. Las revisiones cumplen con unos criterios de elegibilidad establecidos previamente; además, evalúan críticamente los estudios a través de métodos sistemáticos y explícitos, con el fin de minimizar sesgos, para obtener así conclusiones fiables basadas en una medida global que resume el efecto de una intervención en salud (56). Su objetivo fundamental es el de responder preguntas donde existe incertidumbre o gran cantidad de opciones (57).

Las revisiones clásicas de literatura científica sobre un tema, se pueden diferenciar de las revisiones sistemáticas de la literatura, en que mientras en las primeras un experto revisa

estudios publicados y a su criterio elige cuales son útiles y relevantes para su revisión (58), en las segundas, hay recopilación de información con una metodología estructurada, valoración crítica de los estudios y síntesis de los resultados.

Los elementos fundamentales para realizar una revisión sistemática incluyen: establecer un objetivo, tener una lista de criterios de inclusión y exclusión de estudios acorde al propósito principal de la revisión, crear una metodología de búsqueda exhaustiva y reproducible, evaluar la validez de los resultados de los estudios incluidos y la presentación de la síntesis de los resultados producto de la revisión (59). Su desenlace final es generar información que pueda ser utilizada con confianza para la toma de decisiones, teniendo en cuenta como beneficiario principal al paciente (60).

Para garantizar que una revisión sistemática cumpla con criterios de calidad, se han creado protocolos que guían su desarrollo y reporte de resultados; es así, que desde el año 1999 se han originado metodologías que sugieren la manera de publicar los resultados de las revisiones sistemáticas (59). De esas herramientas, la más utilizada actualmente es PRISMA (61), la cual está basada en un conjunto mínimo de elementos para la presentación de informes de revisiones sistemáticas y metaanálisis.

#### **4.2.1 Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA).**

Las directrices para la Publicación de Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis de estudios que evalúan intervenciones sanitarias, PRISMA, son una herramienta útil para el reporte de revisiones sistemáticas, debido a que cuentan con una explicación detallada de aspectos clave sobre su metodología y desarrollo (58). La declaración PRISMA consiste en una lista de verificación de 27 ítems y un diagrama de flujo de cuatro fases, las cuales están sujetas a actualizaciones constantes a medida que aparece nueva evidencia, todo esto, enfocado a mejorar la comunicación de los diferentes tipos de investigación en salud, así como la calidad los métodos de búsqueda de información utilizada en la toma de decisiones en la asistencia sanitaria (61).

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar una revisión sistemática de la literatura, que describa el estado actual de pruebas de laboratorio usadas para el diagnóstico de fiebres icterohemorrágicas.

### **5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Establecer las pruebas diagnósticas utilizadas para diagnóstico de fiebres icterohemorrágicas y los factores determinantes que influyen en sus características operativas.
- Relacionar la utilidad y rendimiento de las pruebas diagnósticas para cada enfermedad con el área geográfica.

## **6. METODOLOGÍA**

El proceso de desarrollo de la presente revisión sistemática se realizó utilizando la metodología descrita en PRISMA (61).

### **6.1 Búsqueda de la literatura**

#### **6.1.1 Criterios de inclusión**

##### **6.1.1.1 Tipos de estudio**

Se incluyeron estudios observacionales descriptivos y analíticos de pruebas diagnósticas que hacen referencia al diagnóstico de los síndromes icterohemorrágicos: dengue, fiebre amarilla, leptospirosis, rickettsiosis y malaria.

##### **6.1.1.2 Tipos de participantes**

Artículos cuyos participantes sean humanos de cualquier edad (excepto mujeres embarazadas) que hayan sido diagnosticados clínicamente con la definición de caso establecida para los síndromes icterohemorrágicos, por la Organización Mundial de la Salud (26).

##### **6.1.1.3 Tipos de intervenciones y comparaciones**

Se incluyeron estudios que reportan:

- Dengue diagnosticado por ELISA Captura IgM (Prueba de Oro) vs otros métodos.
- Diagnóstico de Fiebre Amarilla por determinación de IgM específica (Patrón de Oro) vs detección de genoma viral (PCR) y otros métodos.
- Leptospirosis diagnosticada por prueba de microaglutinación (MAT) (Prueba de Oro) vs ELISA IgG, IgM y otros métodos.
- Diagnóstico de Rickettsiosis por Inmunofluorescencia indirecta (Prueba de Oro) frente a otros métodos.
- Malaria diagnosticada por gota gruesa (Prueba de Oro), vs métodos inmunocromatográficos (Pruebas Rápidas de Diagnóstico) y otros.
- Artículos que contemplan la diferenciación de fiebres icterohemorrágicas por diferentes pruebas diagnósticas.

##### **6.1.1.4 Tipos de desenlaces**

La revisión buscó la evaluación de la prueba diagnóstica en términos de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y valores predictivos negativos, así como la determinación de factores tanto propios de las pruebas, como externos (ambiente, región geográfica, etc) que modifican su rendimiento. Para estudios descriptivos, los artículos deben contemplar el tipo de enfermedad, el método diagnóstico e información que permita la determinación de las características operativas de las pruebas en caso de no ser reportadas en el estudio. En el caso de estudios analíticos, los artículos deben suministrar datos de especificidad, sensibilidad, valores predictivos (positivos y negativos) o los estimativos para calcularlos.

#### **6.1.1.5 Año de publicación**

Se tuvieron en cuenta estudios publicados entre los años 2008 y 2014.

#### **6.1.1.6 Idioma de publicación**

Se aceptaron artículos en idioma español, inglés, portugués y francés.

#### **6.1.2 Criterios de exclusión**

No hicieron parte del estudio documentos que:

- Evaluaran agentes causales de fiebres icterohemorrágicas diferentes a los de ésta revisión.
- Artículos de agentes etiológicos incluidos en esta revisión, que estén asociados a patologías diferentes.
- Artículos que estén publicados en idiomas diferentes al español, inglés, portugués y francés.
- Artículos que tengan como población en estudio mujeres embarazadas.
- Artículos que comparen pruebas diagnósticas sin patrón de oro.

#### **6.1.3 Fuentes de información**

Como estrategia de búsqueda se emplearon bases de datos como Cochrane, Pubmed, Lilacs, SCIELO, ScienceDirect (Elsevier) y revistas científicas colombianas que no estaban incluidas en las bases de datos previamente mencionadas. Por otro lado se tuvieron en cuenta documentos facilitados por expertos en el tema (literatura gris).

La búsqueda de artículos científicos en las respectivas bases de datos se inició el 11 de Julio del 2013, y finalizó el 6 de Mayo del 2014.

#### **6.1.4 Estrategias de búsqueda**

Para la obtención de artículos potencialmente útiles para el desarrollo de la revisión, se tuvieron en cuenta palabras clave, descritas en términos MeSH y DeCs para cada una de las enfermedades de la siguiente manera:

- Dengue: “Dengue”, “Dengue Hemorrhagic Fever/diagnosis”, “diagnosis”, “humans”, “clinical laboratory techniques”.
- Fiebre Amarilla: “yellow fever/diagnosis”, “yellow fever”, “diagnosis”, “laboratorio”, “fiebre amarilla”
- Malaria: “Malaria”, “diagnosis”, “humans”, “Plasmodium falciparum”, “clinical laboratory techniques”, “Vivax/diagnosis”, “Plasmodium knowlesi”, “Falciparum/diagnosis”
- Leptospirosis: “Leptospirosis” “leptospirosis/diagnosis”, “humans”, “Weil Disease/diagnosis”, “lepstopirosis/diagnosis”
- Rickettsiosis: “Rickettsia Infections/diagnosis”, “humans”, “Rickettsia”, “Diagnosis”, “rickettsia/diagnosis”, “rickettsiosis”.



## 6.2 Extracción de los datos

Tras la selección de los artículos a través de la aplicación de los algoritmos de búsqueda en las bases de datos, se realizó una tabla en Excel para ingresar los datos útiles (Patrón estándar, prueba comparada, sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos, valores predictivos negativos, número de pacientes estudiados, tipo de muestra, ubicación geográfica, factores que modifican las pruebas y autores).

## 6.3 Evaluación de la calidad metodológica

Para la evaluación de la calidad de los artículos, se realizaron 5 listas de chequeo, una por cada enfermedad; los ítems de la evaluación de la calidad se muestran en la tabla 1. Se realizó una revisión independiente y ciega por parte de dos observadores (el primero la tesista, el segundo los asesores), cada uno de los cuales determinó si los artículos cumplían los parámetros establecidos, a la vez que realizó la extracción de los datos en la tabla de Excel.

<b>Ítem 1</b>	¿El artículo realiza una comparación entre dos pruebas diagnósticas?
<b>Ítem 2</b>	¿El artículo menciona claramente la prueba comparada vs el patrón de oro?*
<b>Ítem 3</b>	¿La población definida cumple con los requisitos?
<b>Ítem 4</b>	¿El artículo se encuentra publicado entre el 2008 y el 2014?
<b>Ítem 5</b>	¿El artículo tiene datos relacionados con la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos, valores predictivos negativos, o la información necesaria para calcularla?
<b>Ítem 6</b>	¿Fueron precisados los sesgos en el estudio?

**Tabla 1.** Ítems para la evaluación de la calidad metodológica de los artículos.

\* El patrón estándar va definido en las listas de chequeo para cada enfermedad.

Tras la elección de los artículos que cumplen con los ítems de calidad metodológica previamente establecidos, se ingresaron al software RevMan 5 (ideal para la construcción de las revisiones sistemáticas), con el fin de determinar la eficacia de cada artículo y así elegir únicamente los estudios que cumplieran estrictamente con los parámetros de alta calidad para hacer parte de la presente revisión sistemática.

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

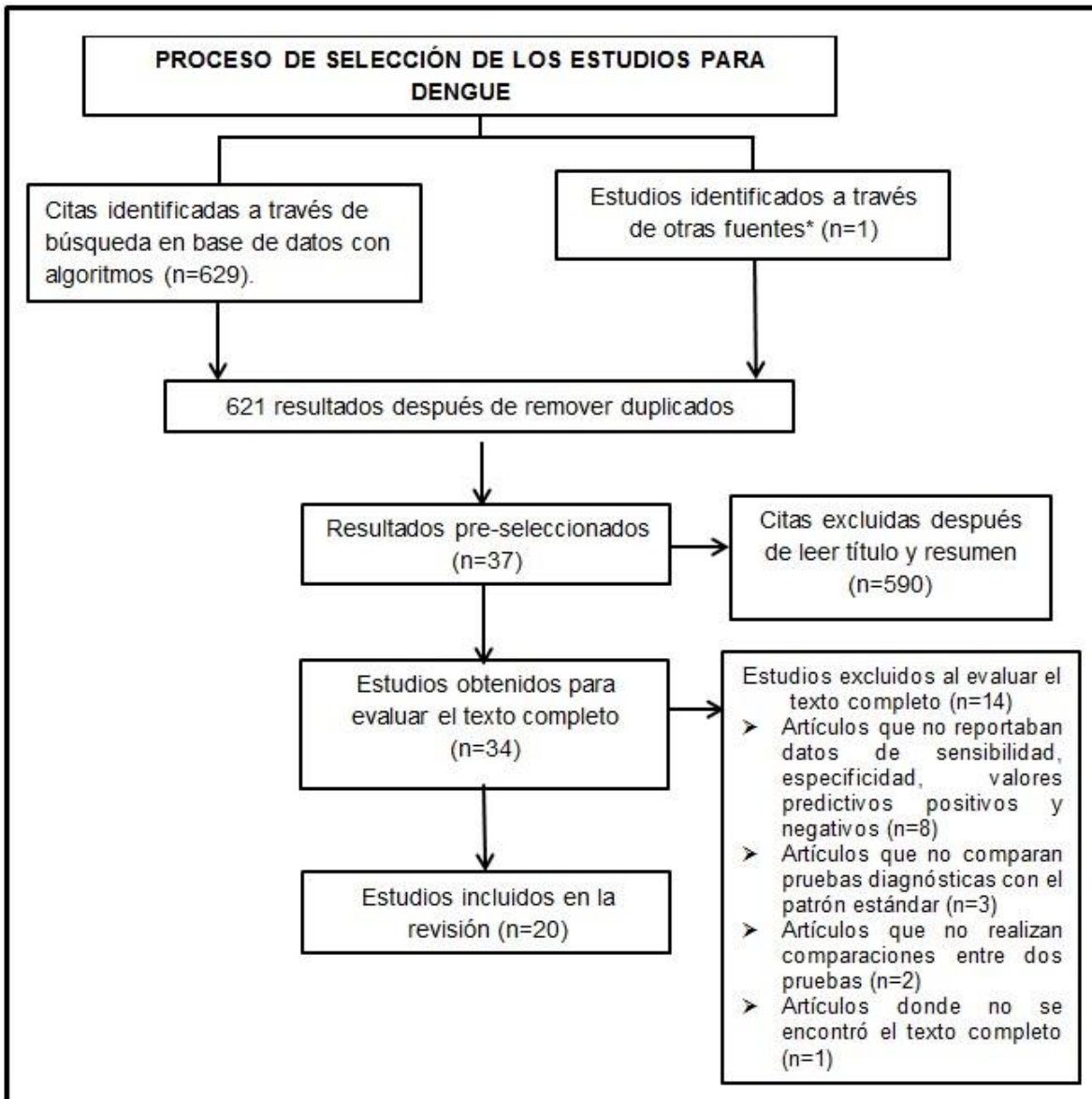
### 7.1 Estudios seleccionados

La búsqueda de información a través de las bases de datos científicas arrojó los siguientes resultados para cada una de las patologías:

#### 7.1.1. Estudios seleccionados para dengue

Con el uso de los algoritmos de búsqueda en las diferentes bases de datos utilizadas para encontrar artículos útiles para el diagnóstico de dengue, se generaron 629 resultados, de los cuales se pre-seleccionaron por título 37. Una vez leído el resumen, 34 artículos fueron sometidos a lectura del texto completo y evaluación por parte de dos observadores

de manera independiente, con el fin de disminuir los sesgos de selección. Finalmente, tras cumplir con todos los parámetros, se incluyeron en la revisión 20 artículos (Figura 1).



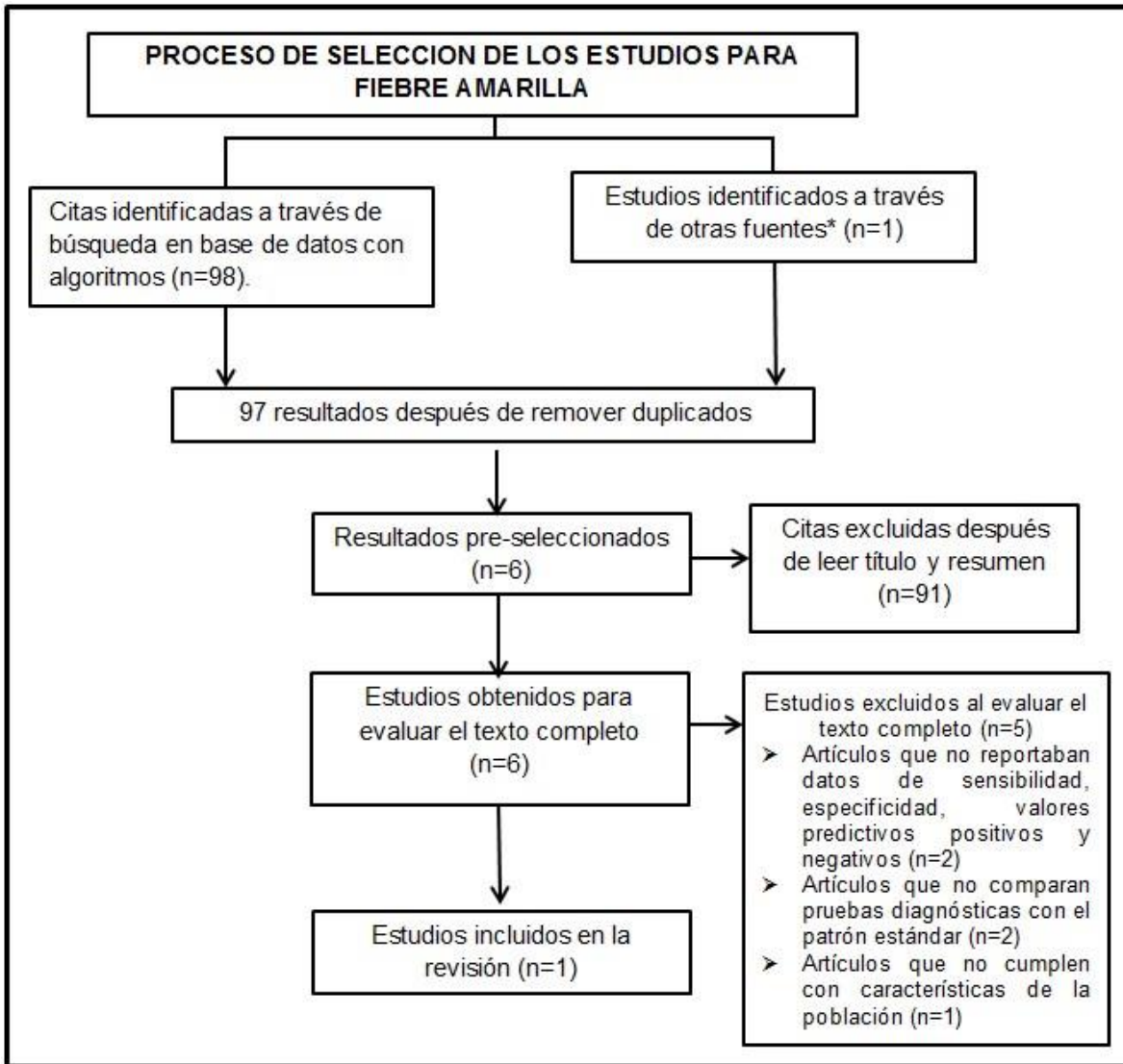
**Figura 1.** Proceso de selección de estudios para determinar estado actual de pruebas de laboratorio para diagnóstico de dengue.

\* Se refiere a artículos no indexados en las bases de datos consultadas, o información suministrada por expertos en el tema (literatura gris).

### 7.1.2. Estudios seleccionados para fiebre amarilla

A través del uso de los algoritmos de búsqueda en las bases de datos utilizadas, se generaron 98 resultados relacionados con pruebas diagnósticas para fiebre amarilla, de éstos, se seleccionaron 6 tras la lectura del título y resumen. Posteriormente se sometieron a lectura del texto completo y evaluación por parte de dos observadores de

manera independiente, con el fin de disminuir los sesgos de selección. Finalmente tras determinar cuáles artículos científicos se ajustaban con los criterios de inclusión del estudio, se incluyó sólo un artículo para hacer parte de la revisión sistemática. (Figura 2).



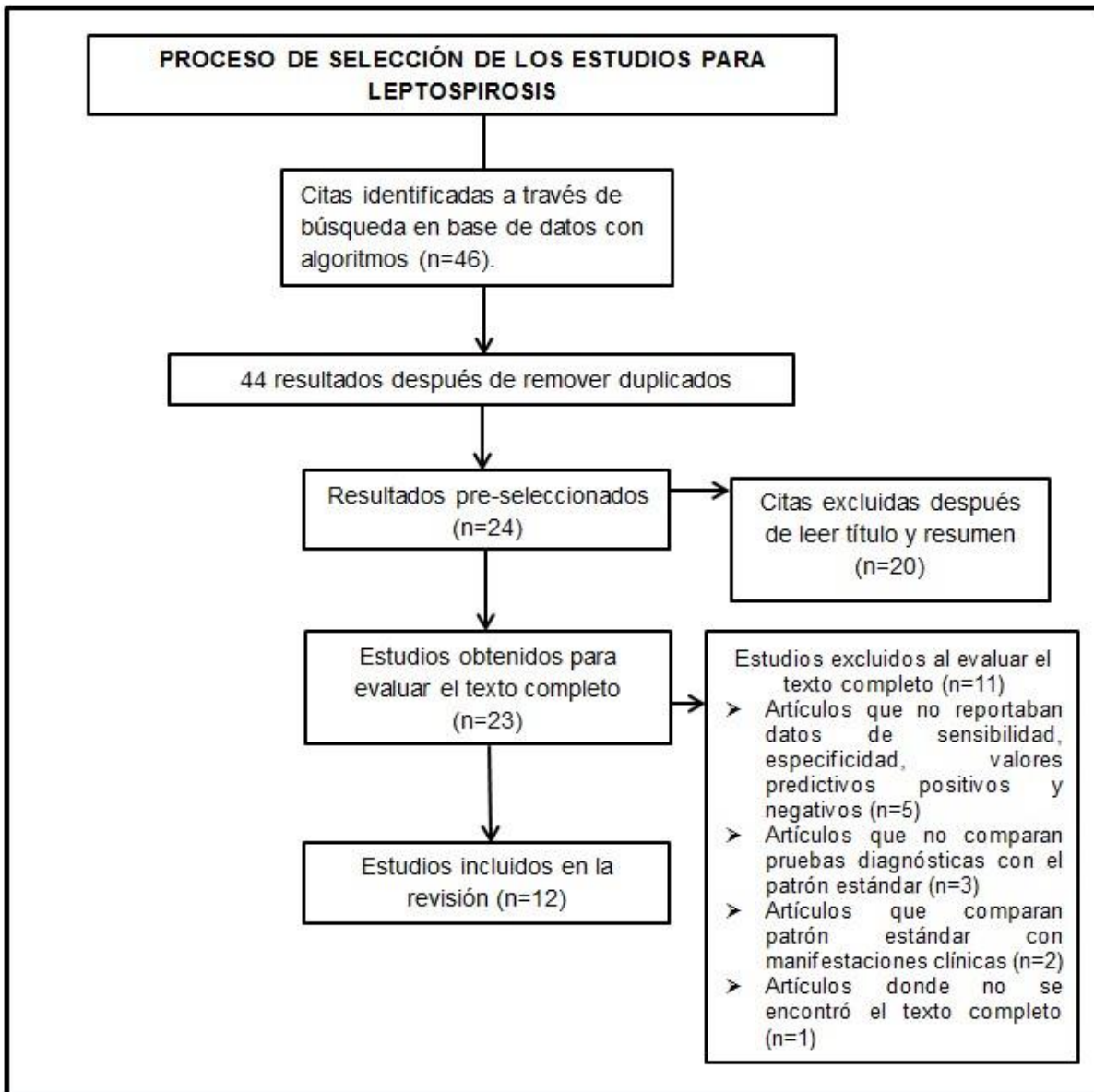
**Figura 2.** Proceso de selección de artículos incluidos en la revisión para establecer el estado de pruebas de laboratorio diagnósticas para fiebre amarilla.

\* Se refiere a artículos no indexados en las bases de datos consultadas, o información suministrada por expertos en el tema (literatura gris).

### 7.1.3 Estudios seleccionados para leptospirosis

Con el uso de los algoritmos de búsqueda en las diferentes bases de datos utilizadas para encontrar artículos útiles para el diagnóstico de leptospirosis, se generaron 46 resultados potenciales. Una vez removidos los artículos duplicados, se obtuvieron 44 artículos y después de leído el título y el resumen, fueron seleccionados 24 de ellos para su lectura y evaluación por parte de dos observadores de manera independiente, con el fin de

disminuir los sesgos de selección. Tras determinar los reportes que cumplieran con los criterios para ingresar al estudio, se incluyeron 12 artículos (Figura 4).

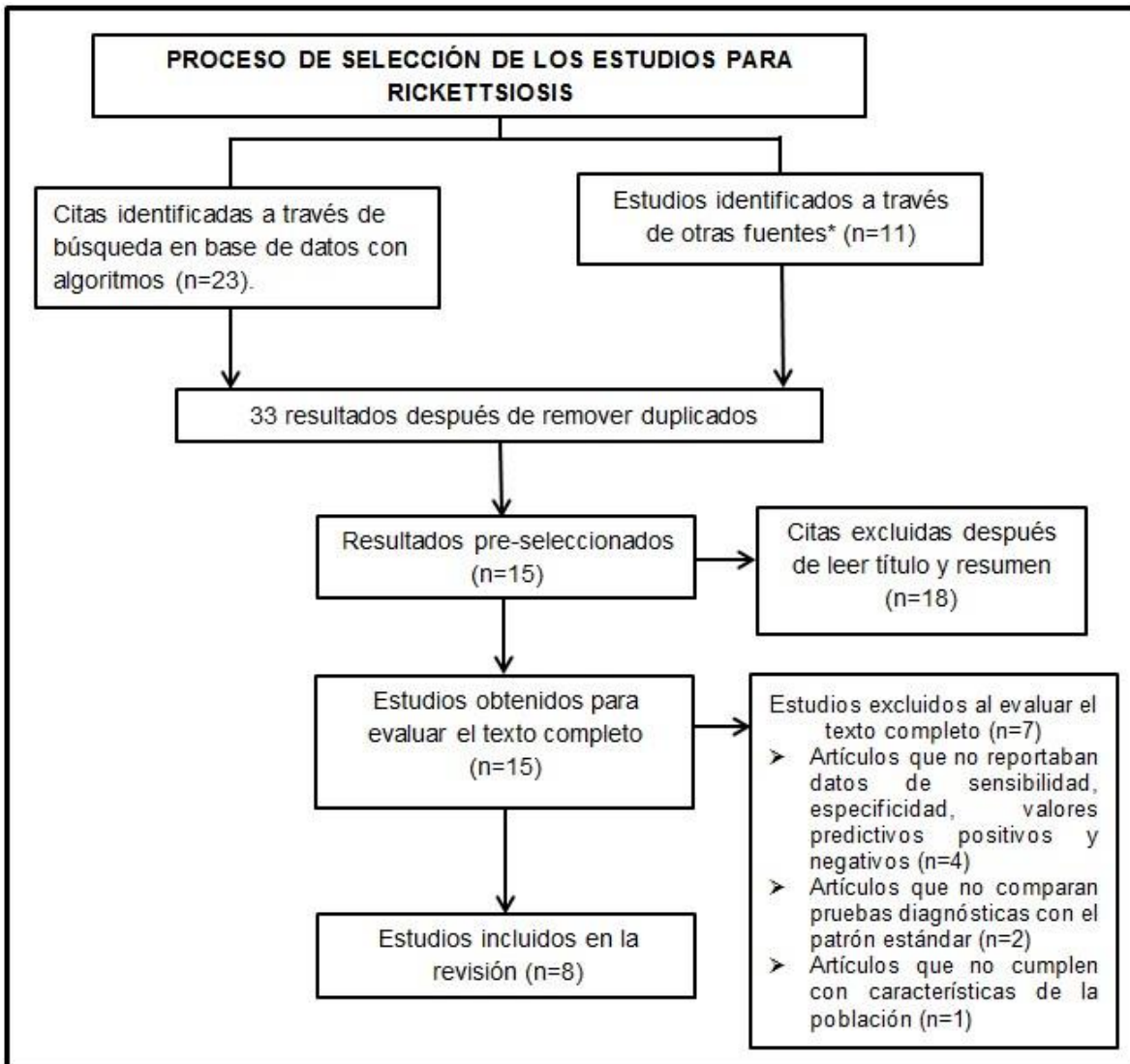


**Figura 3.** Proceso de selección de artículos incluidos en la revisión para establecer el estado de pruebas de laboratorio diagnósticas para Leptospirosis.

#### 7.1.4 Estudios seleccionados para rickettsiosis

Con el uso de los algoritmos de búsqueda en las bases de datos utilizadas para encontrar artículos científicos útiles sobre pruebas diagnósticas para rickettsiosis, se generaron 23 resultados. Por otro lado, un experto en el tema suministró 11 documentos que se tienen en cuenta como literatura gris y fueron igualmente revisados. Después de la remoción de artículos duplicados se obtuvieron 33 artículos, de éstos, 15 fueron sometidos a lectura del texto completo y evaluación por parte de dos observadores de manera independiente,

con el fin de disminuir los sesgos de selección. Se determinó que 8 artículos científicos cumplieran con los criterios de inclusión, por lo que se incluyeron en el estudio (Figura 5).

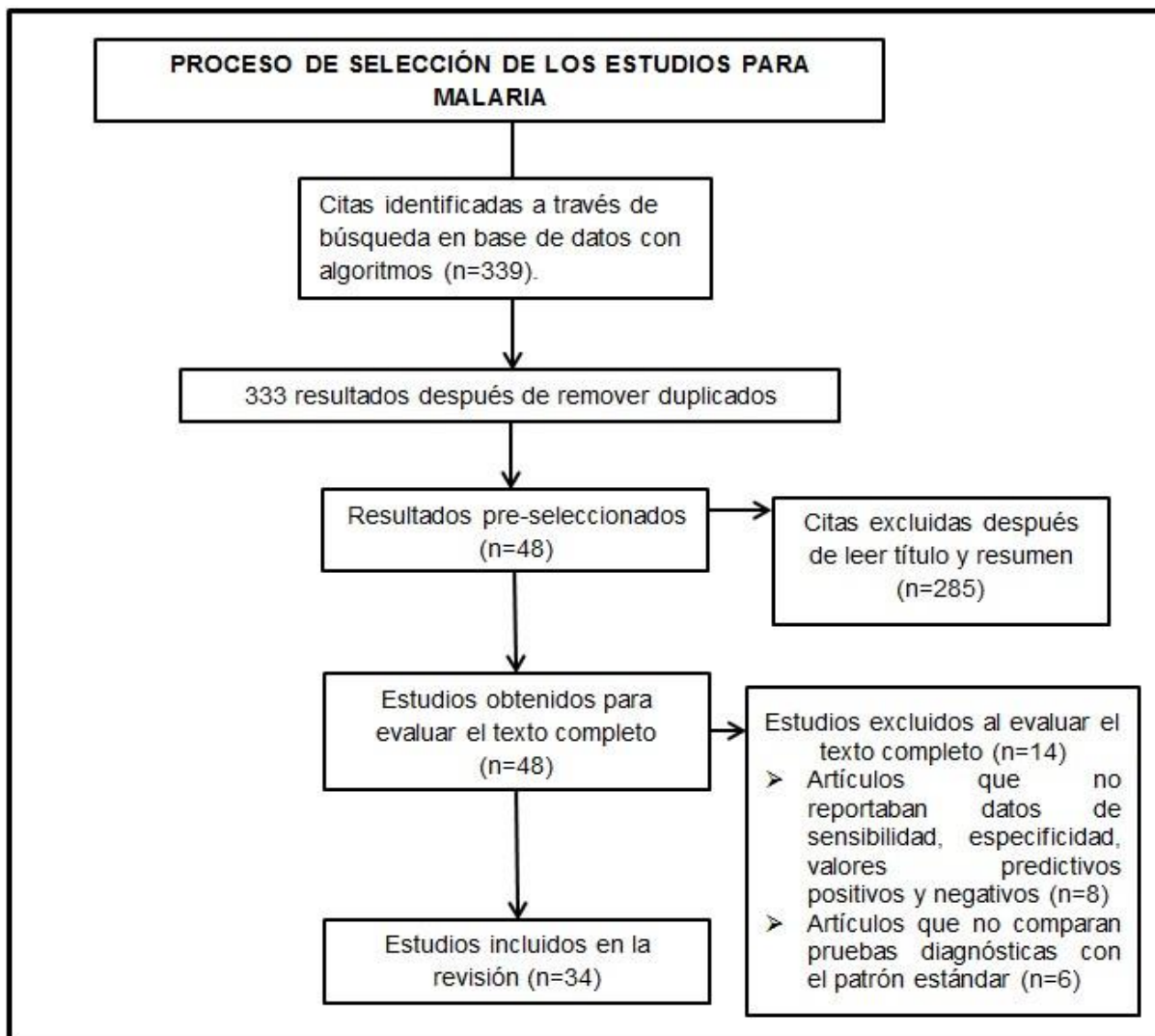


**Figura 4.** Proceso de selección de artículos incluidos en la revisión para establecer el estado de pruebas de laboratorio diagnósticas de rickettsiosis.

\* Se refiere a artículos no indexados en las bases de datos consultadas, o información suministrada por expertos en el tema (literatura gris).

### 7.1.5 Estudios seleccionados para malaria

Con el uso de los algoritmos específicos para la búsqueda de reportes de la literatura referentes al diagnóstico de malaria, se generaron 339 resultados. Tras remover los artículos que se encontraban duplicados quedaron 333. Finalmente 48 artículos que fueron seleccionados por título y resumen, se sometieron a lectura del texto completo y evaluación por parte de dos observadores de manera independiente, con el fin de disminuir los sesgos de selección. Después de seleccionar los estudios que cumplieran en su totalidad con los criterios de inclusión, se incluyeron 34 artículos a la revisión sistemática (Figura 5).



**Figura 5.** Proceso de selección de artículos incluidos en la revisión para establecer el estado de pruebas de laboratorio diagnósticas para malaria.

## 7.2 Características de los estudios

Como soporte de la información base de este estudio, a continuación se presenta un resumen esquematizado para cada enfermedad del síndrome icterohemorrágico en lo relacionado con los estudios seleccionados, las pruebas diagnósticas, sus características operativas y áreas geográficas en donde se desarrollan.

### 7.2.1. Dengue

Para esta enfermedad se seleccionaron veinte estudios, ubicados un 35% en América y el restante 65% en Asia. Destaca el hecho que dentro de un mismo país se advierten resultados diferentes para la misma prueba (62,64) y esta circunstancia se hace aún más marcada si se trata de diferencias entre países (65,68)

AUTOR	AÑO	PAÍS DE ORIGEN	No. MUESTRA	PRUEBA DIAGNÓSTICA	S	E	VPP	VPN
<b>AMÉRICA</b>								
Castro-Jorge et al. (62)	2010	Brasil	250 sueros	Biorad Platelia NS1	95.9%	81.1%	93.4%	100%
Costa Barreira et al. (63)	2010	Brasil	85 sueros	Inmunoensayo en células infectadas EIA-ICC	74%	92%	77%	90%
Bisordi et al. (64)	2011	Brasil	2321 sueros	Dengue early ELISA Panbio NS1	98%	80%	92%	95%
				Biorad Platelia NS1	99.5%	80%	95.6%	97.6%
				Dengue NS1 ag STRIP kit Biorad	99.3%	84.1%	95.5%	97.2%
Osorio et al. (65)	2010	Colombia	310 sueros	Biorad Platelia NS1	70.8%	92.3%	95.5%	57.5%
				Pan-E™ Dengue Early	71.1%	89.1%	94%	56.6%
				SD Dengue NS1	68.8%	96.7%	96.8%	56.1%
				Dengue NS1 Ag STRIP kit Biorad (30min)	61.5%	93.3%	97%	50.6%
				SD Bioline Dengue Duo (NS1/IgM/IgG)	80.7%	89.1%	94.6%	66.1%
Martínez et al. (66)	2009	Colombia	100 sueros	Panbio prueba de cassette (IgM-IgG)	52.2%	84.8%	87.5%	46.7%
Valdez et al. (67)	2012	México	113 sueros	SD Bioline Dengue Duo (NS1/IgM/IgG)	100%	98.8%	-	-
Bessof et al. (68)	2008	Puerto Rico	208 sueros	Biorad Platelia NS1	83.2%	100%	100%	62.5%
				Pan-E™ Dengue Early	64.9%	97.8%	100%	39.3%
<b>ASIA</b>								
Mayxay et al. (69)	2011	Laos	234 sueros	Prueba del torniquete	34%	91%	90%	34%
Chua et al. (70)	2011	Malasia	589 sueros	Aislamiento viral	40.5%	-	39%	-
				RT- PCR	48.4%	-	46%	-
				Q-PCR	58.9%	-	57%	-
Guzmán et al. (71)	2010	Multicéntrico (6 países)	854 sueros	Pan-E™ Dengue Early	52%	100%	-	-
			1284 sueros	Biorad Platelia NS1	64%	100%	-	-
Pun et al. (72)	2012	Nepal	131 sueros	Rapid SD Bioline	70%	76.5%	64.8%	80.5%

Khan et al. (73)	2009	Pakistan	83 sueros	Panbio Capture ELISA Den Duo	83.5%	90%	98.4%	42.9%
				Calbiotech (IgM)	50.7%	60%	90.2%	14.3%
Pan-ngum et al. (74)	2013	Sri Lanka	549 sueros	Dengue early ELISA Panbio NS1	45.9%	97.9%	87.3%	84.9%
				IgM cassette	54.5%	95.5%	46.2%	86.8%
				IgG cassette	62%	84.5%	35.4%	87.5%
Blacksell et al. (75)	2012	Sri Lanka-Tailandia	239 sueros	Pan-E™ Dengue Early	55.2%	98.6%	-	-
				Panbio dengue virus IgG capture ELISA	39.8%	93.2%	-	-
				SD Dengue Virus NS1 antigen ELISA	87.4%	63.5%	-	-
				SD Dengue Virus IgM	87.9%	95.5%	-	-
				SD Dengue Virus IgG	87.8%	95.3%	-	-
				Biorad Platelia NS1	56.5%	100%	-	-
Chaterji et al (76)	2011	Sri Lanka-Tailandia	354 sueros	Dengue NS1 Ag STRIP kit Biorad (30 min)	80.5%	100%	-	-
				Dengue NS1 Ag STRIP kit Biorad (15 min)	77.3%	100%	-	-
Watthanaworawit et al. (77)	2011	Tailandia	162 sueros	IgM captura	54%	88%	52%	57%
				RT-PCR	89%	96%	94%	92%
				Panbio Dengue Early ELISA NS1	17%	100%	100%	73%
Chunhakan et al (78)	2009	Tailandia	318 sueros	IFI de detección de antígeno en mononucleares.	82.1%	100%	100%	69%
Fry et al. (79)	2011	Vietnam	298 sueros	Panbio Dengue Early ELISA NS1	69.2%	96%	-	-
		Malasia	293 sueros		68.9%	96.7%	-	-
Hang et al. (80)	2009	Vietnam	138 sueros	Biorad Platelia NS1	82%	100%	100%	38.2%
				NS1 lateral flow rapid test (LFRT)	72%	100%	100%	27.6%
Tricou et al. (81)	2010	Vietnam	292 sueros	Dengue NS1 Ag STRIP kit Biorad	61.6%	100%	100%	33.3%
				SD Bioline Dengue Duo (NS1/IgM/IgG)	86.7%	97.9%	99.5%	53.5%

**S:** Sensibilidad **E:** Especificidad **VPP:** Valores Predictivos Positivos **VPN:** Valores Predictivos Negativos

**Tabla 2.** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico del virus del Dengue.



En los 20 artículos seleccionados se reportan varias características que interfieren en el rendimiento de las pruebas útiles para el diagnóstico del dengue. Los estudios obtenidos fueron realizados solamente en países de Asia y América, sobre pruebas diagnósticas y el análisis de sus características en 5.818 y 3.387 muestras respectivamente.

En primer lugar, varios reportes mencionan que la sensibilidad de las pruebas está asociada al serotipo del virus y que en su mayoría, el DEN-2 es el que disminuye más la sensibilidad de todas las pruebas diagnósticas (62, 64, 65, 71, 76). También se reportó que todas las pruebas diagnósticas tienen una sensibilidad baja durante los primeros tres días de la enfermedad (70, 71, 76, 77), así como que la ubicación geográfica influye en sus características operativas (71). La fase de la enfermedad en donde se encuentre el paciente también hace que la sensibilidad de las pruebas se altere (66, 74, 80).

Por otro lado, en un reporte se estima que la vacunación previa contra la fiebre amarilla puede dar una prueba falsamente positiva en el diagnóstico del dengue (65). Entre otras causas de falsedad en las pruebas diagnósticas, está la presencia de inmunocomplejos IgG-NS1 en pacientes con infecciones secundarias (62, 80, 81), los niveles bajos de plaquetas y los niveles elevados de transaminasas (73).

En la mayoría de los artículos revisados, la proteína no estructural NS1 ha cobrado un papel fundamental en el diagnóstico del dengue. Las pruebas que determinan NS1 son más sensibles en la detección de infecciones primarias (62, 80, 81) y se empieza a disminuir la sensibilidad a partir del día 3 y hasta el día 8 después del comienzo de los síntomas (62, 64). En las infecciones secundarias su cantidad tiende a disminuir (79). Dos artículos reportan la posible asociación entre la presencia de NS1 y sus niveles en sangre (79,81).

El uso de varias pruebas diagnósticas simultáneamente, aumenta su sensibilidad y especificidad. La sensibilidad aumenta considerablemente cuando se detectan NS1, IgM e IgG tanto en fases agudas como en fases convalecientes (79, 81). La determinación de NS1 e IgM en muestras recogidas en los primeros días de la enfermedad, también aumenta la sensibilidad de las pruebas.

El valor de sensibilidad y especificidad descrito en insertos de casas comerciales que realizan la detección de anticuerpos clase IgM mediante ensayo ELISA de captura (patrón de oro) para el diagnóstico del dengue es de 97,27% y 97,47% respectivamente (62) sin tener en cuenta condiciones geográficas u otros factores que alteren su rendimiento. Los valores obtenidos en este trabajo varían de 50.7% a 67.9% en sensibilidad, y de 60% a 85.5% en especificidad del patrón de oro (66, 73, 74, 75, 77), teniendo en cuenta que en países de Asia como Pakistán y Tailandia su rendimiento es considerablemente más bajo que en países de América, lo que indica en términos de sensibilidad que un número importante de individuos no están siendo diagnosticados como enfermos por esta prueba (falsos negativos) y en términos de especificidad, un número importante de individuos está siendo diagnosticado como enfermo, aun cuando no lo está (falsos positivos). Lo que se detectó posteriormente fue que la determinación de proteína no estructural 1 (NS1) del virus aumentó considerablemente los valores de sensibilidad en 80.7% a 100% y en especificidad de 98.8% a 100% (65, 67, 81), por lo cual el uso del patrón estándar junto con la detección de NS1 mediante ensayo ELISA de captura constituye la mejor herramienta diagnóstica del virus del dengue en la actualidad. Las detecciones

moleculares aún no son utilizadas rutinariamente, pero son una ayuda importante tanto en la confirmación de la infección, como en la clasificación por serotipos (81).

La confirmación acertada del diagnóstico del dengue, depende de la combinación de las pruebas de detección de NS1 e IgM, así como del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas (77) y del contexto geográfico donde se realicen.

### 7.2.2 Fiebre amarilla

Para esta enfermedad se consideró un único estudio, ubicado en Europa, específicamente en Alemania, en donde se aplica la inmunofluorescencia indirecta como método diagnóstico alternativo de la fiebre amarilla, obteniéndose un mayor índice de correlación con el patrón estándar en la determinación de IgG.

AUTOR	AÑO	PAÍS DE ORIGEN	No. MUESTRA	PRUEBA DIAGNÓSTICA	S	E	VPP	VPN
<b>EUROPA</b>								
Niedrig et al. (82)	2008	Alemania	300 sueros	IFI Euroimmun Biochip IgM	94%	93%	-	-
				IFI Euroimmun Biochip IgG	95%	96%	-	-
<b>S:</b> Sensibilidad <b>E:</b> Especificidad <b>VPP:</b> Valores Predictivos Positivos <b>VPN:</b> Valores Predictivos Negativos								

**Tabla 3.** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico del virus de la fiebre amarilla.

En este reporte se menciona, que los anticuerpos específicos para el virus de la fiebre amarilla pueden hacer reacción cruzada con otros flavivirus como la encefalitis transmitida por garrapatas, el virus del Nilo Occidental, el virus de la encefalitis Japonesa y el virus del dengue (82).

Lo que reporta la literatura sobre pruebas de diagnóstico para fiebre amarilla es muy reducido; su determinación se realiza por aislamiento viral, inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la PCR transcriptasa reversa (RT-PCR); sin embargo, múltiples factores intervienen en el rendimiento de estas pruebas. El aislamiento por cultivo, puede verse afectado por condiciones de la muestra y del transporte (11) y las pruebas serológicas presentan reactividad cruzada con la mayoría de flavivirus (21). El único estudio que hace parte de esta revisión evaluó la determinación de anticuerpos clase IgM e IgG mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) obteniendo resultados favorables respecto a su rendimiento; sin embargo el hecho de no tener otros artículos que mencionen las características operativas tanto de la misma prueba en otro contexto geográfico, como de otras pruebas diagnósticas, hace que no se pueda tener una aproximación hacia cual es el método más viable para el diagnóstico de infección por virus de la fiebre amarilla.

Como se mencionó previamente, una de las utilidades de las revisiones sistemáticas es la posibilidad de detectar temas en los cuales se requieren más estudios y en el caso de la fiebre amarilla, es necesaria la investigación de más pruebas de laboratorio que contribuyan y apoyen su diagnóstico, pues con la información con la que se cuenta

actualmente, no se pueden realizar muchas inferencias sobre los mejores métodos y los factores que alteran sus características operativas. Tener a futuro dicha información, va a generar un impacto positivo en el tratamiento, evolución y reducción de la mortalidad de los pacientes con esta patología.

### 7.2.3 Leptospiriosis

Para este caso se seleccionaron 12 estudios, ubicados un 25% en América, un 67% en Asia y el restante 8% en Europa, obteniendo los siguientes resultados.

AUTOR	AÑO	PAÍS DE ORIGEN	No. MUESTRA	PRUEBA DIAGNÓSTICA	S	E	VPP	VPN
<b>AMÉRICA</b>								
Obregón et al (117)	2011	Cuba	461 muestras	Lepto Dipstick	92.8%	90%	86.6%	94.7%
				Leptotek (LFRD)	88.8%	85.5%	84.2%	89.6%
				Leptotek Dri Dot	85.7%	80%	75%	88.8%
				Látex cubano	93.8%	90%	80.2%	97.2%
				SD Leptospira IgM-IgG	89.2%	86.6%	86.2%	89.6%
Nabity et al. (118)	2012	Estados Unidos	446 muestras	Dual Path Platform DPP	77%	93%	-	-
Céspedes et al. (119)	2008	Perú	24 muestras	IgM-pool	73.7%	80%	93.3%	44.4%
				ELISA PanBio	A:31.6%		A:85.7%	A:23%
<b>ASIA</b>								
Shekatkar et al. (120)	2010	India	150 muestras	Aglutinación en látex	90.6%	91.9%	76.3%	91.9%
Pol & Bharadwaj (121)	2009	India	132 muestras	HPLC	93.3%	85%	89.4%	90.3%
Dey et al (122)	2008	India	136 muestras	ELISA con LipI 32	96%	91%	93.9%	94.4%
Tanganuchitch archai et al. (123)	2012	Laos	335 muestras	IgM ELISA Leptospira Panbio	70%	78%	-	-
Lee et al. (124)	2011	Malasia	100 muestras	PCR LipI 32	90%	100%	-	-
Desakorn et al. (125)	2012	Tailandia	218 muestras	IgM ELISA Leptospira Panbio	90.8%	55.1%	-	-
Limmathurotsa kvi et al. (126)	2012	Tailandia	1652 muestras	PCR	52.7%	97.2%	-	-
				LFRD	85.6%	96.2%	-	-
				IFI	45.5%	96.8%	-	-
Thaipadunpanit	2011	Tailandia	266	RT PCR16 rS RNA	56%	93%	-	-

et al. (127)			muestras	RT PCR LipL32	43%	90%	-	-
<b>EUROPA</b>								
Villumsen et al. (128)	2012	Dinamarca	60 orinas	qPCR 16 S	100%	97%	-	-
				qPCR lipL32	86%	100%	-	-
<b>S:</b> Sensibilidad <b>E:</b> Especificidad <b>VPP:</b> Valores Predictivos Positivos <b>VPN:</b> Valores Predictivos Negativos <b>LFRD:</b> Lateral Flow Rapid Diagnostic. <b>A:</b> Muestra en fase aguda <b>HPLC:</b> Cromatografía Líquida de Alta Eficacia <b>IFI:</b> Inmunofluorescencia Indirecta.								

**Tabla 4.** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico de leptospirosis.

En la evaluación de las pruebas de laboratorio para diagnóstico de leptospirosis se incluyeron 931 muestras en América, 2989 en Asia y 60 en Europa. En primer lugar, se indica que el tipo de muestra influye en las características operativas de las pruebas serológicas (127,128). En segunda instancia y para el caso particular de muestras de orina, se reportó una reacción cruzada con otras bacterias presentes en ella (123, 128). Por último, pruebas como la creatinina sérica y el hecho de ser donante de sangre, son factores que alteran la sensibilidad en el diagnóstico de leptospirosis (118, 119). Finalmente en 4 reportes se asoció la positividad de una prueba con la duración de la sintomatología (118, 120, 123, 127).

En cuanto a pruebas serológicas, se observó un buen rendimiento en la detección de anticuerpos clase IgM mediante ELISA, con sensibilidades de 89.2% a 90.8% y especificidades de 78% a 90% tanto en América como en Asia (117, 123, 125), lo cual permite considerar su uso como método diagnóstico alternativo de leptospirosis. No obstante, es importante tener presente que la limitación en los serovares utilizados en las pruebas serológicas como lo es la ELISA IgM, constituye el aspecto fundamental que disminuye el rendimiento de las pruebas (121,122).

Se estima que los resultados falsamente negativos reportados en las pruebas moleculares se deben a cepas infectantes genéticamente distantes de las cepas patogénicas con las que se realizan los ensayos, impidiendo la unión del primer y la amplificación del producto (127). En el presente estudio se evidencian sensibilidades del 43% al 56% para PCR (119, 127), lo que concuerda con los reportes de la literatura que atribuyen a la baja sensibilidad los falsos negativos. En su mayoría las pruebas moleculares que dieron negativo, permitieron identificar posteriormente *L. interrogans* serovar Autumnnalis (118, 119, 127).

La confirmación acertada del diagnóstico de leptospirosis puede ser realizada a través de ELISA IgM, teniendo en cuenta sus limitaciones y asociando siempre sus resultados con el estándar de oro (MAT).

#### 7.2.4 Rickettsiosis

Para este caso se seleccionaron 8 estudios, ubicados un 12.5% en América, un 50% en Asia y el restante 37.5% en Europa, obteniendo los siguientes resultados

AUTOR	AÑO	PAÍS DE ORIGEN	No. MUESTRA	PRUEBA DIAGNÓSTICA	S	E	VPP	VPN
<b>AMÉRICA</b>								
Anaya et al. (129)	2009	Perú	170 s	ELISA IgM	78%	80%	87.6%	66.7%
				IFI IgM	82%	91.7%	94.3%	75.3%
<b>ASIA</b>								
Pan (130)	2012	China	11 pacientes	LAMP	73%	100%	-	-
Phetsouvanh (131)	2009	Laos	53 pacientes	Filter paper blood spots	91%	87%	100%	80%
Kutaratne (132)	2009	Sri Lanka	30 pacientes	Test de Weil Félix	33%	46%	-	-
Watthanawora wit (133)	2013	Tailandia	180 pacientes	qPCR Orientia	88.6%	99.4%	-	-
				qPCR Rickettsia	86.4%	100%	-	-
<b>EUROPA</b>								
Kantso et al. (134)	2009	Dinamarca	211 muestras	IFI Focus diagnostics	74%	79%	-	-
				IFI Fuller Labs	60%	73%	-	-
Santibañez et al. (135)	2012	España	72 muestras	PCR	gltA	73.3%	-	-
					ompB	83.3%	-	-
Angelakis et al. (136)	2012	Francia	145 bp, 79 s, 95 g	Cultivo	29.4%	-	-	-
				qPCR	82%	-	-	-
<b>S:</b> Sensibilidad <b>E:</b> Especificidad <b>VPP:</b> Valores Predictivos Positivos <b>VPN:</b> Valores Predictivos Negativos <b>IFI:</b> Inmunofluorescencia Indirecta <b>bp:</b> Biopsias de piel <b>s:</b> Sueros <b>g:</b> Garrapatas <b>LAMP:</b> Loop mediated isothermal amplification								

**Tabla 5.** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico de rickettsiosis.

De los ocho artículos científicos con información acerca de pruebas de laboratorio diagnósticas de rickettsiosis incluidos en la presente revisión, se analizaron en América 170 pacientes, en Asia 274 y en Europa se procesaron 428 muestras para su diagnóstico etiológico. Dos artículos reportaron reacciones cruzadas de test serológicos con agentes como *Salmonella typhi*, *Coxiella burnetii* (134, 129) y un artículo menciona que la sensibilidad varía según el tipo de muestra (133). Por otro lado, se sugiere que ante la sospecha de infección por el grupo de las fiebres manchadas, se debe confirmar por dos o más métodos diagnósticos para evitar falsos negativos (130). Dos artículos reportaron características operativas adecuadas de la prueba de oro, con sensibilidades del 74% al 82% y especificidades del 73% al 91,7% (129, 134).

En cuanto al cultivo como método diagnóstico, un reporte afirma que tiene una sensibilidad más baja frente a la de todos los métodos serológicos, pues depende del número de bacterias intracelulares, la centrifugación y la terapia antibiótica previa (136). Por otro lado, se podría decir la prueba de Weil Félix para el diagnóstico de rickettsiosis es obsoleta, ya que la sensibilidad y la especificidad son considerablemente bajas, lo cual hace que tenga un valor clínico cuestionable, tal como se describe en un estudio (132).

En la actualidad, el uso de pruebas moleculares permite la detección especie específica para las rickettsias (135). Esta determinación resuelve el inconveniente principal de la prueba de oro, la cual no la detecta (134). Los artículos incluidos en el presente estudio

reportan pruebas moleculares que están siendo realizadas en Asia y Europa, con características operativas favorables (133, 135, 136).

La confirmación acertada del diagnóstico de rickettsiosis puede ser realizada por inmunofluorescencia indirecta (IFI) teniendo en cuenta sus limitaciones y, a través de métodos moleculares, los cuales en este momento son determinantes, pues detectan la especie causal de la patología.

### 7.2.5 Malaria

En este caso se seleccionaron 34 estudios, ubicados un 47% en Africa, un 12% en América, un 29% en Asia, un 9% en Europa y el restante 3% en Oceanía, obteniendo los siguientes resultados:

AUTOR	AÑO	PAÍS DE ORIGEN	No. MUESTRA	PRUEBA DIAGNÓSTICA	e	S	E	VPP	VPN
<b>AFRICA</b>									
Valéa et al. (83)	2013	Burkina Faso	464 muestras	OptiMAL-IT (Pf-LDH, P-LDH)	G	98.7%	96.2%	-	-
Mens et al. (84)	2012	Burkina Faso	365 muestras	NALFIA (PCR+RDT)	G	94.9%	97.4%	-	-
				SD Biotline	G	96.7%	87.7%	83.7%	97.2%
Tahar et al. (85)	2013	Camerún	179 muestras	Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2, Pan-specific LDH)	G	95.5%	81%	94.1%	85%
				Diaspot (HRP2)	F	91.7%	90.5%	96.8%	77.6%
				OptiMAL-IT (Pf-LDH, P-LDH)	G	62.5%	92.9%	93.8%	59.1%
Santana-Morales et al. (86)	2012	Etiopia	471 muestras	qPCR	G	52%	70%	-	-
Sharew et al. (87)	2009	Etiopia	668 muestras	CareStart™ Malaria Pf/Pv (HRP2-LDH)	F	99.4%	96.8%	91.3%	99.8%
					V	99.4%	98.2%	99.8%	99.8%
Mekonnen et al. (88)	2010	Etiopia	240 muestras	CareStart™ Malaria Pf/Pv (HRP2-LDH)	F	96.4%	100%	100%	96.9%
					V	95.3%	100%	100%	94.9%
Endeshaw et al. (89)	2010	Etiopia	1997 muestras	Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2, Pan-specific LDH)	F	79.6%	97.4%	86.9%	95.6%
					V	74.4%	98.6%	76.3%	98.4%
					ParacheckPf (HRP2)	F	73.7%	98.6%	95.3%
Moges et al. (90)	2012	Etiopia	254 muestras	CareStart™ Malaria Pf/Pv (HRP2/pLDH)	F	90.9%	97.3%	91.3%	96.7%
					G	92.9%	95.4%	91.3%	96.7%
Endeshaw et al. (91)	2012	Etiopia	1997 muestras	Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2)	F	74.9%	95.7%	85.3%	93.7%
Ashton et al. (92)	2010	Etiopia	2383 muestras	CareStart™ Malaria Pf/Pv (HRP2-LDH)	G	85.6%	94.8%	72.8%	97.7%
					F	85.6%	92.4%	65.3%	97.5%
					NF	85%	97.2%	80.4%	98%

				Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2)	G	85.6%	94.8%	70%	97.5%
					F	85.6%	92.4%	65.3%	97.5%
				ICT Combo® pf-HRP2/pan-aldolase	NF	82.5%	96.2%	74.7%	97.6%
					G	85.6%	94.7%	71.9%	97.7%
					F	85.6%	92.7%	66.2%	97.5%
				OptiMAL-IT (pLDH)	NF	85%	96.7%	77.7%	98%
Mawilli-Mboumba (93)	2009	Gabon	2157 muestras		Acon (Malaria pf-HRP2 RT Device)	G	94%	97%	89%
Kweka et al. (94)	2011	Tanzania	750 muestras	ParaHIT-f	F	94%	90%	71%	98%
Laurent et al. (95)	2010	Tanzania	598 muestras	Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2)	G	10.7%	100%	100%	70.9%
Kabaynze et al. (96)	2008	Uganda	357 muestras	Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2)	F	96.1%	63.1%	57.6%	96.9%
Batwala et al. (97)	2010	Uganda	300 muestras	ICT Combo® pf-HRP2/pan-aldolase	G	98%	72%	69%	98%
Gwanzura et al. (98)	2011	Zimbabwe	330 muestras	ParacheckPf (HRP2)	F	91%	86.3%	73.6%	95.8%
				Cyscope (Microscopia de fluorescencia).	G	98%	98.6%	-	-
<b>AMÉRICA</b>									
Andrade et al (99)	2010	Brasil	691 muestras	Optimal-IT RDT	F	84.8%	100%	100%	96.1%
					V	81.7%	100%	100%	96.5%
DiMaio et al (100)	2012	Estados Unidos	484 muestras	Binax NOW (LDH+HRP2)	G	84.2%	99.8%	94.1%	99.4%
Stauffer et al. (101)	2009	Estados Unidos	852 muestras	NOW® Malaria Test (HRP-aldolasa)	F	97%	100%	-	99.6%
					NF	86%	100%	-	98%
Zepa et al. (102)	2008	Venezuela	134 muestras	Optimal-IT RDT	G	96.4%	100%	-	-
<b>ASIA</b>									
Alam et al. (103)	2011	Bangladesh	338 pacientes	ParacheckPf (HRP2)	G	98.8%	98.8%	98.8%	98.8%
				Falcivax	G	98.2%	97%	97.1%	98.2%
				Onsite Pf	G	93.6%	97.6%	97.6%	93.7%
				Onsite Pf/Pv	G	92.4%	98.8%	98.8%	92.7%
Chou et al (104)	2012	Camboya	1000 pacientes	VIKIA Malaria Ag Pf/Pan (30 mins)	F	93.4%	98.6%	93.4%	90.6%
					NF	82.8%	98.9%	97%	93.4%
				CareStart™ Malaria Pf/Pv (HRP2-LDH)	F	93.4%	98.6%	93.4%	98.6%
Yan et al. (105)	2013	China-Myanmar	606 pacientes	Pf/Pan device (PfHRP2, Pan-pLDH)	NF	85.8%	99.1%	97.6%	94.5%
				Pv/Pf device (PfHRP2)	G	88.6%	90.4%	-	-
					F	91.7%	96.5%	-	-

				Pv-pLDH	V	73.8%	-	-	-
Xiaodong et al. (106)	2013	China-Myanmar	241 pacientes	CareStart™ Malaria Pf/Pv (HRP2-LDH)	G	89.6%	98.2%	98.3%	89.6%
					F	88.5%			
					V	90.7%			
Singh et al. (107)	2010	India	372 pacientes	Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2)	G	93.2%	64.3%	73.1%	90%
				FalciVax PDR	G	88.4%	64.8%	72.4%	84.3%
				Malascan PDR	G	90.5%	60.4%	70.5%	85.9%
				First Response PDR	G	95.8%	58.8%	70.8%	93%
				ParaHIT Total	F	65.8%	76.9%	74.9%	68.3%
Singh et al (108)	2013	India	2841 muestras	First Response PDR	F	97.7%	90.1%	78.1%	99.1%
				GENOMIX(Pf/Pv)	F	75.8%	91.9%	77.1%	91.3%
				FalciVax PDR	F	89.4%	84.1%	67.1%	95.6%
				Parascreen Pan/Pf(Pf-HRP2)	F	88.9%	85.8%	69.3%	95.5%
				NecVIPARUM	F	86.7%	89.6%	75.2%	94.9%
				ParaHIT Total	F	77.9%	90.6%	74.9%	91.9%
				SD Bioline Pf/Pan	F	86.8%	85.4%	68.3%	94.7%
Hada et al. (109)	2011	Nepal	100 pacientes	QBC + microscopía de fluorescencia	G	100%	100%	100%	100%
				OptiMAL®	G	96%	100%	100%	96.1%
Shakya et al. (110)	2012	Nepal	54 pacientes	PDR Hexagon Malaria Combi™	G	Dp >500: 86%	-	-	-
						Dp <500: 2.9%	-	-	-
Buppan et al. (111)	2010	Tailandia	120 pacientes	PCR anidada en saliva/orina	F	<b>s:</b> 74.1% <b>o:</b> 36.2%	100%	-	-
					V	<b>s:</b> 84% <b>o:</b> 27%	100%	-	-
Putaporntip et al. (112)	2011	Tailandia	693 muestras	PCR Cytb 18S-PCR	G	73%	85.4%	100%	-
<b>EUROPA</b>									
Heutmeckers et al. (113)	2012	Bélgica	591 muestras	SDFK90 (PfHRP2/Pf-pLDH)	F	98.5%	98.8%	-	-
Heutmeckers b. et al. (114)	2012	Bélgica	498 muestras	CareStart™ malaria HRP2/pLDH	F	93.9%	-	-	-
					V	74.3%	-	-	-
					M	25%	-	-	-



				(Pf/pan)	O	31.9%	-	-	-
Houzé et al (115).	2011	Francia	292 muestras	Clearview malaria PLDH RDT.	G	93.2%	100%	-	FsfS
					F	98.6%			
					V	90.9%			
					M	85.7%			
					O	60%			
<b>OCEANÍA</b>									
Manning et al. (116)	2012	Nueva Guinea	797 muestras	OptiMAL®	G	47%	100%	-	-
<b>e:</b> Especie <b>S:</b> Sensibilidad <b>E:</b> Especificidad <b>VPP:</b> Valores Predictivos Positivos <b>VPN:</b> Valores Predictivos Negativos <b>F:</b> <i>P. falciparum</i> <b>NF:</b> No <i>falciparum</i> <b>V:</b> <i>P. vivax</i> <b>G:</b> Valor general <b>PDR:</b> Prueba de Diagnóstico Rápido <b>QBC:</b> Quantitative Buffy Coat <b>Dp:</b> Densidad parasítica <b>s:</b> Saliva <b>o:</b> Orina <b>M:</b> <i>P. malariae</i> <b>O:</b> <i>P. ovale</i> .									

**Tabla 6.** Pruebas de laboratorio reportadas para diagnóstico de malaria.

Los 34 artículos seleccionados para determinar características de pruebas diagnósticas para malaria, incluyen estudios en los 5 continentes. En América se analizaron 2161 muestras entre diferentes pruebas diagnósticas, en Asia 6365, en Europa 1381, en Oceanía 797 y en África se analizaron 13510 muestras con las diferentes pruebas rápidas de diagnóstico (PDRs). Dado el contexto en el que alrededor del 90% de todas las muertes por paludismo registradas ocurren en el continente Africano (51), se explica que sea la región geográfica con mayor cantidad de estudios y muestras analizadas.

En cuanto a la determinación de las características de las pruebas de laboratorio diagnósticas para malaria, se encontró que en el 98% de reportes evaluaban la gota gruesa vs pruebas rápidas de diagnóstico.

En primer lugar se reporta que la parasitemia influye directamente en el rendimiento de la prueba, ya que genera falsos negativos cuando la parasitemia es baja (entre <100 parásitos/ul) (85, 87, 91, 93, 94, 97, 100, 105, 106, 109, 114, 115). En segundo lugar, se observa que también se pueden generar falsos negativos a causa de mutaciones o deleciones de las dos proteínas que son más usadas para el diagnóstico de malaria: Pf-pLDH, producida por parásitos en fase asexual y gametocitos, y Pf-HRP2, proteína producida por parásitos asexuados y gametocitos jóvenes expresada en la membrana del glóbulo rojo, específica de *Plasmodium falciparum*. (93, 105, 109, 113, 114). Ambas proteínas son afectadas por condiciones ambientales de humedad y calor extremo (92, 105, 111, 113). Por último, se advierte que un aumento en la proteína Pf-HRP2 a causa del aumento en la densidad parasitaria, puede generar una proteína Pv-PLDH falsamente positiva (105); además, la persistencia de proteínas circulantes, de 1 a 37 días después de realizar el tratamiento, también generan falsos positivos sugestivos de infección actual, aun cuando el paciente ya no tiene malaria (87, 92, 93, 96, 100, 105). Es por esto, que en su mayoría, las pruebas rápidas de diagnóstico de malaria no deben ser utilizadas como control durante el tratamiento con antimaláricos. (85, 91, 97, 113).

En tres estudios se reportó que la proteína Pf-LDH no varía por efectos de prozona, en cambio la Pf-HRP2 si (85, 92, 113). Dos reportes determinaron que la detección de *P. ovale* es mínima (101, 105), es por esto que se menciona la necesidad de crear pruebas más sensibles para esta especie, más si se considera que en los últimos años se ha reportado en zonas de Europa y Estados Unidos, que *P. ovale* representa el 7% de los casos de malaria importada, generando complicaciones severas en los pacientes, tales

como rotura de bazo, anemia grave entre otras (137). Igualmente, se hace necesario crear pruebas más sensibles para *Plasmodium vivax* y para *P. malariae* (100, 105).

En cuanto a pruebas moleculares, 2 estudios establecen su importancia ya que éstas permiten corregir el patrón estándar el cual es muy imperfecto (85, 103); sin embargo, la principal limitación de las pruebas moleculares es que difícilmente por cuestiones de altos costos de las mismas, se puede adquirir en la mayoría de centros de atención. Otros cuatro estudios muestran la influencia del bacteriólogo que lee la lámina, en el resultado de la gota gruesa (88, 91, 93, 105).

El hecho de que se reporte en la literatura que alrededor del 40% de *Plasmodium falciparum* en Sur América tiene mutaciones o deleciones en el gen que codifica para la proteína HRP2 (105), permite adquirir precaución y consideración acerca del uso de pruebas rápidas de diagnóstico que detecten únicamente esta proteína en esta región geográfica. Por lo anterior, es necesario implementar medidas de control para pruebas rápidas de diagnóstico de malaria (105).

Es importante para el diagnóstico de malaria, la elección de pruebas rápidas según regiones geográficas y características de la población determinadas; a su vez, es indispensable el uso del patrón estándar como método confirmatorio.

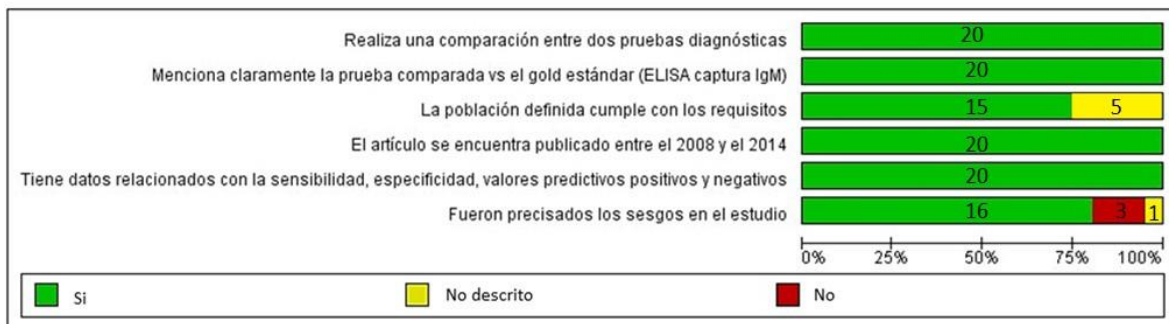
### 7.3 Evaluación de la calidad metodológica:

Para cada una de las enfermedades se realizó la evaluación de la calidad metodológica, ingresando en un software denominado RevMan 5, perteneciente a la biblioteca Cochrane (138), los artículos incluidos en la presente revisión, con el fin de verificar el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos.

#### 7.3.1. Dengue

Como se muestra en la figura 6, se evaluó que los artículos incluidos en el estudio, estuvieran dentro de los criterios de calidad determinados previamente en las listas de chequeo. En los 20 artículos se realizó la comparación del patrón estándar vs pruebas diagnósticas. Igualmente los 20 artículos se encuentran publicados entre los años 2008 y 2014 y tienen datos asociados con características operativas de las pruebas evaluadas.

Evaluación de la calidad metodológica de artículos seleccionados para dengue.

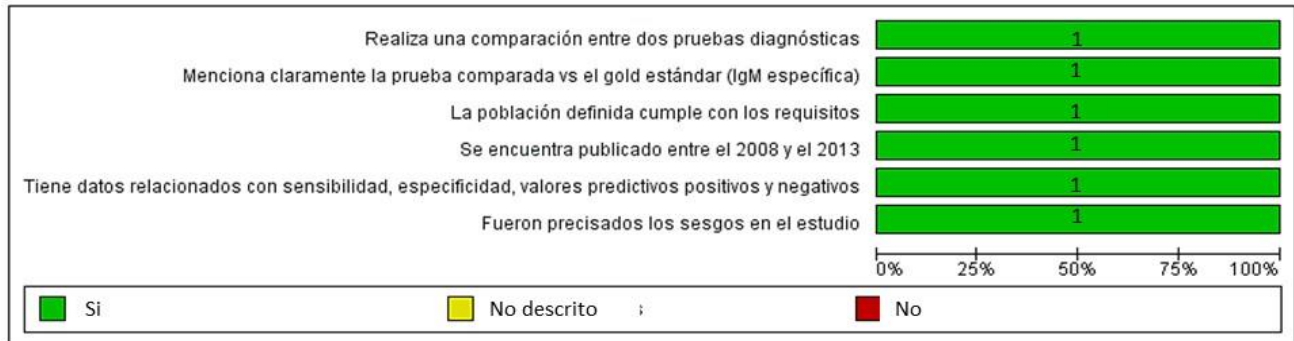


**Figura 6.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para dengue.

### 7.3.2. Fiebre amarilla

En la figura 7 se observa que el único artículo considerado en la revisión, cumple con todos los criterios de calidad determinados previamente en las listas de chequeo.

Evaluación de la calidad metodológica de artículos seleccionados para fiebre amarilla.

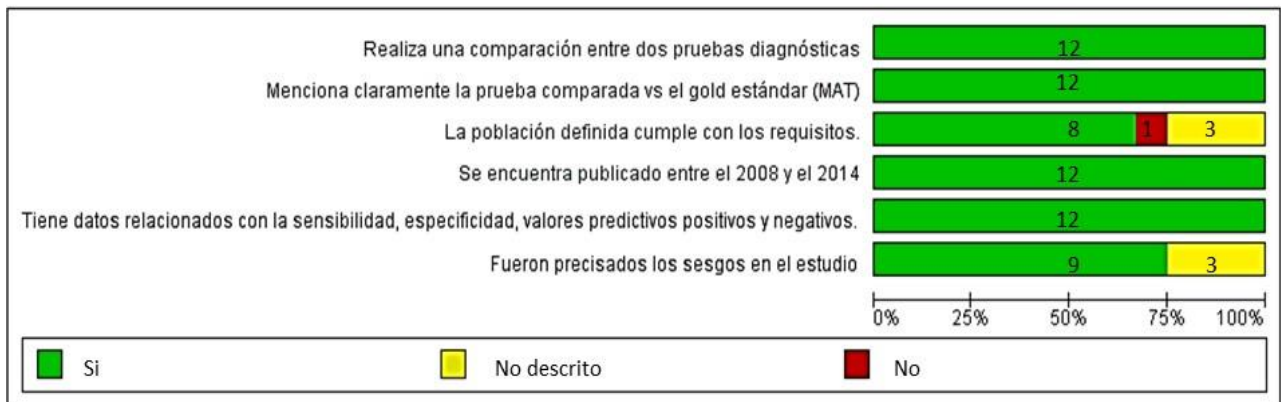


**Figura 7.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para fiebre amarilla

### 7.3.3. Leptospirosis

Como se observa en la figura 8, los 12 artículos científicos incluidos en la revisión sistemática cumplen en su mayoría con los criterios de calidad determinados previamente en las listas de chequeo. Todos describen comparaciones entre el patrón estándar vs pruebas diagnósticas; 8 documentos mencionan la población en la que se realizaron los estudios, en tres artículos no es clara la población definida y en un artículo no se menciona.

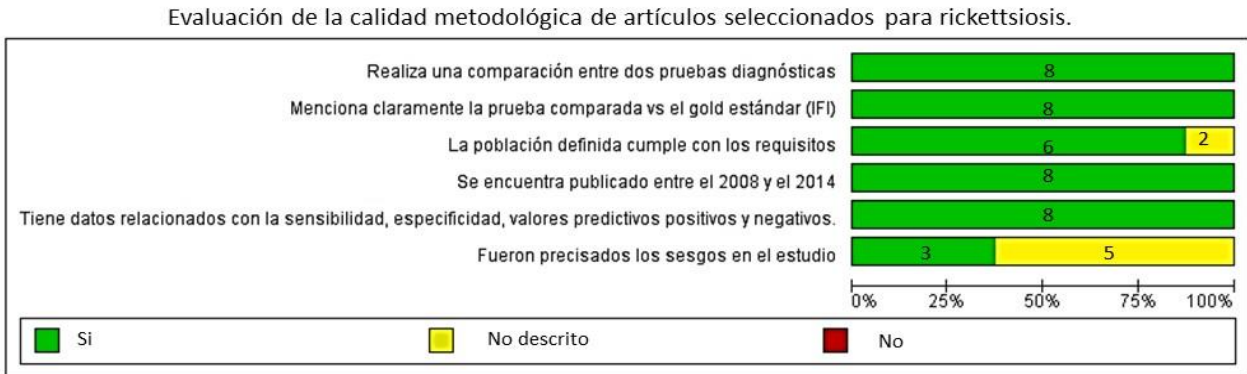
Evaluación de la calidad metodológica de artículos seleccionados para leptospirosis.



**Figura 8.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para leptospirosis.

### 7.3.4 Rickettsiosis

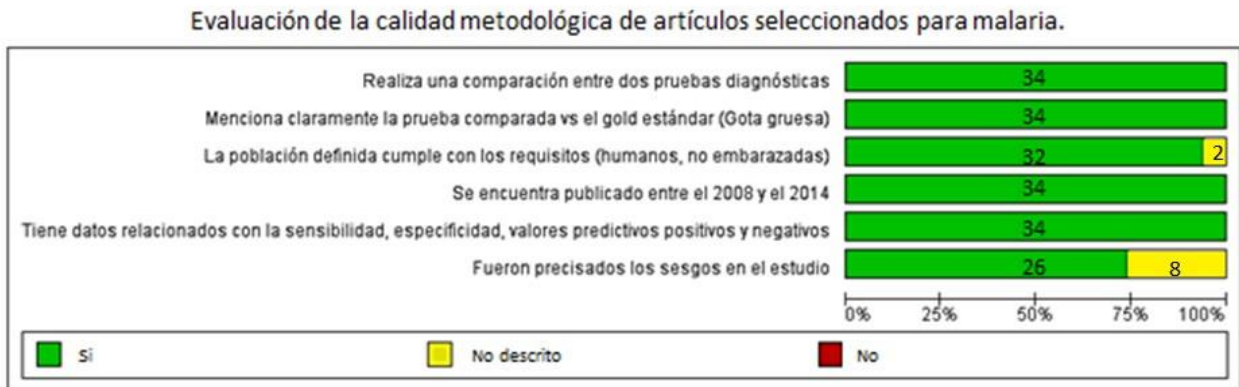
Como se observa en la figura 9, los 8 artículos incluidos en el estudio cumplen con los criterios de calidad determinados previamente en las listas de chequeo. En su totalidad describen comparaciones del patrón estándar vs pruebas diagnósticas y tienen datos de sus características operativas. En 2 estudios no se menciona la población en la cual se desarrolla la prueba y en 5, no se mencionan los posibles sesgos de los estudios.



**Figura 9.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para rickettsiosis.

### 7.3.5 Malaria

Como se observa en la figura 10, todos los artículos cumplen en su mayoría con los criterios de calidad determinados previamente en las listas de chequeo. Los 34 artículos describen un método de comparación del patrón estándar vs pruebas diagnósticas, se encuentran publicados dentro del período permitido y tienen valores de características operativas de las pruebas diagnósticas para malaria. 2 artículos no mencionan en qué población se estaba haciendo el estudio y 8 artículos no declaran ningún tipo de sesgo.



**Figura 10.** Evaluación de la calidad de los estudios incluidos en la revisión de pruebas diagnósticas para malaria.

## 7.4 Limitaciones

Una de las principales limitantes del presente estudio, fue la no inclusión de artículos que estuvieran en idiomas diferentes al español, inglés, portugués y francés, puesto que las revisiones sistemáticas deben abarcar preferiblemente la totalidad de la información en un tema en específico.

También puede considerarse como factor limitante el hecho que existiendo mucha información en la literatura gris de estudios sobre estandarización y validación de pruebas diagnósticas y, que aunque una de las estrategias de búsqueda fué indagar con expertos, se quedan muchos estudios por fuera que podrían eventualmente aportar información importante.

## 8 CONCLUSIONES

- Las revisiones sistemáticas son ideales para generalizar resultados y tener información actualizada sobre un tema en específico.
- Las pruebas diagnósticas dependen de factores externos, que deben ser controlados y tenidos en cuenta para no alterar el rendimiento de las mismas.
- Es de suma importancia definir características operativas de pruebas diagnósticas para fiebres icterohemorrágicas en la población.
- En el caso de infección por virus del dengue, su confirmación acertada depende de la combinación de las pruebas de detección de NS1 e IgM, así como del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas y del contexto geográfico donde se realicen.
- En el caso de la fiebre amarilla, es necesaria la investigación de más pruebas de laboratorio que contribuyan y apoyen su diagnóstico, pues con la información con la que se cuenta actualmente, no se pueden realizar muchas inferencias sobre los factores que alteran las características operativas de las pruebas diagnósticas.
- En la leptospirosis, la limitación en los serovares utilizados es el factor fundamental que disminuye el rendimiento de las pruebas. Su diagnóstico puede realizarse a través de ELISA IgM, teniendo en cuenta sus limitaciones y asociando siempre sus resultados con el estándar de oro (MAT).
- La confirmación acertada del diagnóstico de rickettsiosis puede ser realizada con inmunofluorescencia indirecta (IFI) teniendo en cuenta sus limitaciones y, a través de métodos moleculares los cuales en este momento son determinantes, pues detectan la especie causal de la patología.
- Es importante para el diagnóstico de malaria, la elección de pruebas rápidas según regiones geográficas y características de la población determinadas; a su vez, es indispensable el uso del patrón estándar como método confirmatorio.
- Es necesario implementar medidas de control para pruebas rápidas de diagnóstico de malaria.

## 9 RECOMENDACIONES

Para el caso específico de la fiebre amarilla se sugiere realizar más estudios que muestren las características operativas de las pruebas, lo cual conduzca a la recolección de información útil en la toma de decisiones para la elección de una prueba diagnóstica para la misma. Anexo a esto y para las demás patologías, es necesario incrementar

estudios acerca del comportamiento de pruebas diagnósticas en diferentes regiones, pues se demostró que hay un alto índice de variabilidad en la sensibilidad y especificidad de las pruebas entre poblaciones. Las detecciones moleculares en general se están incrementando debido a que cuentan con las mejores características operativas. Como paso posterior a la presente revisión, es ideal el desarrollo de un metaanálisis para determinar en valores numéricos las características operativas globales de cada prueba que diagnostica fiebres icterohemorrágicas y, así a futuro pueda generarse una guía de práctica clínica, útil para la toma de decisiones que traigan más beneficios que riesgos en el diagnóstico, tratamiento y cuidado del paciente.

## 10 BIBLIOGRAFIA

1. Vargas J. (2013). Prevención y control de la Malaria y otras enfermedades transmitidas por vectores en el Perú. *Revista Peruana de Epidemiología* 11(1):1-18.
2. Campuzano G, Blair S (2010). Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico. *Medicina & Laboratorio* 16: 311-354.
3. Ortín E, Sánchez J. A, Menárguez J. F, Hidalgo M. I.(2013). Lectura crítica de un artículo sobre diagnóstico. [http://www.murciasalud.es/recursos/ficheros/136615-capitulo\\_9.pdf](http://www.murciasalud.es/recursos/ficheros/136615-capitulo_9.pdf) Consultado Mayo 6 de 2014.
4. Egger M, Smith G, Altman D (2003). Systematic reviews in health care: Meta-Analysis in context. British Medical Journal. London, England.
5. Letelier L. M, Manríquez J.J, Rada G.(2005). Revisiones Sistemáticas y Metaanálisis, ¿son la mejor evidencia?. *Boletín de la Escuela de Medicina* 30(2)1-3. Chile
6. Faccini AA, Forero EG, Cortés JA, Polo L, Jácome J. et al (2013). Caso probable de fiebre manchada (*Rickettsia felis*) transmitida por pulgas. *Biomédica* 33(Supl.1):9-13 doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.723>.
7. Hidalgo M, Faccini AA, Valbuena G (2013). Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: Avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. *Biomédica* 33(Supl.1):161-78. doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1466>.
8. Instituto Nacional de Salud (INS)(2010). Protocolo de vigilancia y control de fiebre amarilla.<http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/subdireccion-vigilancia/sivigila/protocolos%20sivigila/fiebre%20amarilla.pdf> Consultado Febrero 2 de 2014.
9. Organización Mundial de la Salud (OMS)(2006). Uso de las pruebas de diagnóstico rápido de la malaria [http://www.wpro.who.int/publications/docs/Malaria\\_RDT\\_2ndEd\\_Spanish.pdf](http://www.wpro.who.int/publications/docs/Malaria_RDT_2ndEd_Spanish.pdf) Consultado Febrero 5 de 2014.
10. Organización Panamericana de la Salud (OPS), Instituto Nacional de Salud (INS), Ministerio de Protección Social (2013). Guía para la atención clínica integral del paciente con dengue.
11. Méndez MC, Domingo C, Tenorio A, Pardo L, Rey G, et al (2013). Development of a reverse transcription polymerase chain reaction method for yellow fever virus detection. *Biomédica* 33(Supl 1):190-6. doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1452>

12. Monath TP(2011). Yellow fever: An update. *The Lancet Infectious Diseases*. 1:11-20. doi:10.1016/S1473-3099(01)00016-0.
13. Ahmad SN, Shah H, Ahmad FM H (2005). Laboratory diagnosis of Leptospirosis. *Journal of Postgraduate Medicine*. 51(3): 195-200.
14. Mattar S, Miranda J, Ríos R. Zoonosis emergentes y reemergentes (2007). Universidad de Córdoba. Colombia.
15. Wilson ML (2013). Laboratory diagnosis of Malaria. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 137:805–811 doi: 10.5858/arpa.2011-0602-RA.
16. World Health Organization (WHO) (2013). Global burden of Dengue. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>. Consultado Marzo 2 de 2014.
17. World Health Organization (WHO) (2000). Strengthening Implementation of the Global Strategy for Dengue Fever/Dengue Haemorrhagic Fever Prevention and Control. <http://www.who.int/csr/resources/publications/dengue/whocdsdenic20001.pdf>. Consultado Abril 27 de 2014.
18. Instituto Nacional de Salud (INS) (2014). Boletín epidemiológico semanal. <http://www.ins.gov.co:81/boletinepidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2014%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2005.pdf> Consultado Marzo 2 de 2014.
19. Guzmán M, Kourí G (2004). Dengue diagnosis, advances and challenges. *International Journal of Infectious Diseases*. 8: 69-80. doi: 10.1016/j.ijid.2003.03.003
20. Guzmán M, Kouri G (1996). Advances in dengue diagnosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 3(6):621-627.
21. Fry S, Meyer M, Semple M, Simmons C, Sekaran S, et al. (2011). The Diagnostic Sensitivity of Dengue Rapid Test Assays Is Significantly Enhanced by Using a Combined Antigen and Antibody Testing Approach. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 5(6): e1199. doi:10.1371/journal.pntd.0001199.
22. Sierra B, Garcia G, Perez A, Morier L, Rodriguez R, et al. (2002). Long-term memory cellular immune response to dengue virus after a natural primary infection. *International Journal of Infectious Diseases* 6(2):125-8.
23. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, et al. (2002) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Specific to Dengue Virus Type 1 Nonstructural Protein NS1 Reveals Circulation of the Antigen in the Blood during the Acute Phase of Disease in Patients Experiencing Primary or Secondary Infections. *Journal of Clinical Microbiology* 40(2):376-81 doi: 10.1128/JCM.40.2.376-381.2002.
24. Gregory C, Santiago L, Argüello F, Hunsperger E, Tomashek K (2010). Clinical and Laboratory Features That Differentiate Dengue from Other Febrile Illnesses in an Endemic Area—Puerto Rico, 2007–2008. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 82(5): 922–929. doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0552



25. World Health Organization (2013). Yellow fever. Key facts. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/en/> Consultado Marzo 3 de 2014.
26. Organización Mundial de la Salud (OMS) (2013) <http://www.who.int/es/> Consultado Enero 20 de 2014.
27. Domingo C, Escadafal C, Rumer L, Méndez J, García P, et al. (2012) First International External Quality Assessment Study on Molecular and Serological Methods for Yellow Fever Diagnosis. *PLoS ONE* 7(5): e36291. doi:10.1371/journal.pone.0036291
28. World Health Organization (2012). Leptospirosis. Fact sheets. [http://www.wpro.who.int/mediacentre/factsheets/fs\\_13082012\\_leptospirosis/en/](http://www.wpro.who.int/mediacentre/factsheets/fs_13082012_leptospirosis/en/) Consultado Marzo 3 de 2014.
29. Bharti A, Nally J, Ricaldi J, Matthias M, Diaz M, et al. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*. 3:757–771.
30. Organización Mundial de la Salud (OMS). Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Río de Janeiro, Brasil.
31. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA). Instituto Nacional de Salud <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-vigilancia/sivigila/Paginas/sivigila.aspx> Consultado Marzo 4 de 2014.
32. Villumsen S, Pedersen R, Borre MB, Ahrens P, Jensen JS, et al. (2012) Novel TaqMan® PCR for detection of *Leptospira* species in urine and blood: Pit-falls of in silico validation. *Journal of Microbiological Methods* 91(1):184–190 doi:10.1016/j.mimet.2012.06.009
33. Cumberland P, Everard CO, Levett PN (1999). Assessment of the efficacy of an IgM-elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61(5): 731-34.
34. Kobayashi Y (2005). Human Leptospirosis: Management and Prognosis. *Journal of Postgraduate Medicine*. 51(3):201-204.
35. Sejvar J, Bancroft E, Winthrop K, Bettinger J, Bajani M, et al. (2003). Leptospirosis in “Eco-Challenge” athletes, Malaysian Borneo, 2000. *Emerging Infectious Diseases*. 9 (6)702–707
36. Brenner D, Krieg N, Staley J. *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology* (2005). Second edition. Athens.
37. Parola P, Paddock C, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts (2005). *Clinical Microbiology Reviews*. 18(4):719-756.

38. Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, et al. (2006). Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Experimental and Applied Acarology*. 40:83–100
39. Vélez J, Hidalgo M, Rodas J. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Universitas Scientarium*. 17(1): 82-99.
40. Renvoisé A, Raoult D (2009). An update on rickettsiosis. *Médecine et maladies infectieuses*. 39(2):71-81 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2008.11.003>.
41. Gillespie J, Williams K, Shukla M, Snyder E, Nordberg E, et al. (2008). Rickettsia Phylogenomics: Unwinding the Intricacies of Obligate Intracellular Life. *PLoS one* 3(4): e2018. doi:10.1371/journal.pone.0002018
42. Center for Disease Control and Prevention (CDC) (2006). Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever, Ehrlichioses, and Anaplasmosis. 55(RR04);1-27.
43. Parola P, Paddock C, Socolovschi C, Labruna M, Mediannikov O, et al (2013). Update on Tick-Borne Rickettsioses around the world: a Geographic Approach. *Clinical Microbiology Reviews*. 26(4):657 doi: 10.1128/CMR.00032-13.
44. Badiaga S, Brouqui P. (2012). Human louse-transmitted infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection*. 18: 332–337. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03778.x
45. Merhej V, Angelakis E, Socolovschi C, Raoult D (2014). Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infection, Genetics and Evolution*. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.014>.
46. Angelakis E, Diatta G, Abdissa A, Trape J, Mediannikov O, et al. (2011). Altitude-dependent Bartonella quintana genotype C in head lice. Ethiopia. *Emerging Infectious Diseases*. 17(12): 2357–2359. doi: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1712.110453>
47. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, et al. (2006) Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recommendations and Reports* 55(RR-4):1–27.
48. Santibáñez S, Portillo A, Santibáñez P, Palomar AM, Oteo JA (2012). Usefulness of rickettsial PCR assays for the molecular diagnosis of human rickettsioses. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 31(5): 283-288 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.08.001>
49. Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, Birtles RJ, Bjoersdorff A, et al. (2004) Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 10: 1108–1132.
50. Instituto Nacional de Salud (INS)(2011). Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de la malaria. <http://www.ins.gov.co/temas-de->

interes/Documentacin%20Malaria/03%20Vigilancia%20entomo%20malaria%20.pdf Consultado Febrero 2 de 2014.

51. World Health Organization (WHO)(2012). Roll Back Malaria. Annual Report 2012. <http://rbm.who.int/AnnualReport2012/index.html> Consultado Marzo 3 de 2014.
52. Amexo M, Tolhurst R, Barnish G, Bates I (2004). Malaria misdiagnosis: effects on the poor and vulnerable. *Lancet*. 364:1896–1898.
53. Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, et al. (1993). High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 61:315–320.
54. Makler MT, Palmer CJ, Ager AL (1998). A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 92:419–433.
55. Bisoffi Z, Gobbi F, Angheben A, Van den Ende J (2009). The role of rapid diagnostic tests in managing malaria. *PLoS Medicine* 6(4): e1000063. doi:10.1371/journal.pmed.1000063
56. Versión en español: Centro Cochrane Iberoamericano, traductores. Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones, versión 5.1.0 [actualizada en marzo de 2011]. Barcelona: Centro Cochrane Iberoamericano; 2012. Disponible en <http://www.cochrane.es/?q=es/node/269>.
57. Ferreira I, Urrútia G, Alonso-Coello P.(2011). Revisiones sistemáticas y metaanálisis: bases conceptuales e interpretación. *Revista Española de Cardiología* 64(8): 688-696. doi:10.1016/j.recesp.2011.03.029
58. Guerra JA, Martín P, Santos JM.(2003). Las revisiones sistemáticas, niveles de evidencia y grados de recomendación. *Fisterra*, atención primaria en red <http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/archivos/Lectura19.pdf> Consultado Mayo 6 de 2014.
59. Frías G. (2011). Utilidad de las revisiones sistemáticas. Editorial. *Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana*. 39(2):39-40.
60. Urrútia G, Bonfill X. (2010).Declaración PRISMA: Una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Medicina Clínica*. 135(11): 507-511. doi:10.1016/j.medcli.2010.01.015.
61. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (2013) <http://www.prisma-statement.org/> Consultado Enero 20 2014
62. Castro-Jorge L.A, Machado P.R, Fávero C.A, Borges M.C, Passos L.M. et al (2010). Clinical evaluation of the NS1 Antigen-Capture ELISA for early diagnosis of Dengue Virus Infection in Brazil. *Journal of Medical Virology* 82:1400-1405. DOI 10.1002/jmv.21814.
63. Costa Barreira L.A, Machado A.M, Aquino V.H, Badra S.J, Moraes L. T.(2010). Padronização e uso de um método imunoenzimático que utiliza células infectadas

como antígeno no diagnóstico rotineiro do dengue. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(3):268-271.

64. Bisordi I, Rocco I.M, Suzuki A, Katz G, Silveira V.R. et al. (2011). Evaluation of dengue NS1 antigen detection for diagnosis in public health laboratories, São Paulo State, 2009. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo*. 53(6):315-320. doi: 10.1590/S0036-46652011000600003.
65. Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar L.A, Parra B.(2010) Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Virology Journal*. 7:361.
66. Martínez R.A, Díaz F. A, Coronel C, Gomez S. Y, Villar L. A.(2009). Evaluación de la utilidad de la prueba rápida de casete por inmunocromatografía para el diagnóstico de dengue en una región endémica colombiana. *Biomédica*. 29:616-24
67. Valdéz J. J, Ruiz D, Vázquez S, Gutiérrez N.C, Guzmán M.G.(2012). Evaluación del sistema diagnóstico SD Dengue Duo para la detección de la proteína NS1 y los anticuerpos IgM e IgG anti-dengue. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 64(1):27-34.
68. Bessof K, Delorey M, Sun W, Hunsperger E. (2008). Comparison of two Commercially Available Dengue Virus (DENV) NS1 Capture Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay Using a Single Clinical Sample for Diagnosis of Acute DENV Infection. *Clinical and Vaccine Immunology*. 15(10):1513. Doi: 10.1128/CVI.00140-08.
69. Mayxay M, Phetsouvanh R, Moore C. E, Chansamouth V, Vongsouvath M. et al. (2011). Predictive diagnostic value of the tourniquet test for the diagnosis of dengue infection in adults. *Tropical Medicine and International Health*. 16(1):127-133. doi:10.1111/j.1365-3156.2010.02641.x
70. Chua K. B, Mustafa B, Wahab A.H, Chem Y.K, Khairul A.H. et al. (2011). A comparative evaluation of dengue diagnostic tests based on single-acute serum samples for laboratory confirmation of acute dengue. *The Malaysian Journal of Pathology*. 33(1) : 13 – 20.
71. Guzmán M.G, Jaenisch T, Gaczowski R, Hang V.T.T, Sekaran S D. et al. (2010). Multi-Country Evaluation of the Sensitivity and Specificity of Two Commercially-Available NS1 ELISA Assays for Dengue Diagnosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 4(8): e811. doi:10.1371/journal.pntd.0000811.
72. Pun R, Shah Y, Gupta G.P, Sherchand S.P, Pandey B.D (2012). Prognostic Value of Rapid Test for Diagnosis of Dengue in Nepalese Patients during 2010 Epidemic. *Kathmandu University Medical Journal* 37(1):7-10.
73. Khan E, Mehraj V, Nasir A, Ahmad N, Billoo B. et al. (2009). Evaluation of two ELISA Assay Kits against RT-PCR for diagnosis of Dengue Virus Infection in a Hospital Setting in Karachi, *Pakistan*. *Journal of Paskitan Medical Asociation* 59(6): 390-394.

74. Pan-ngum W, Blacksell S, Lubell Y, Pukrittayakamee S, Bailey M.S. et al. (2013). Estimating the True Accuracy of Diagnostic Tests for Dengue Infection Using Bayesian Latent Class Models. *PLoS ONE* 8(1): e50765. doi:10.1371/journal.pone.0050765.
75. Blacksell S, Jargam R. G, Gibbons R.V, Tanganuchitcharnchai A, Mammen P. et al. (2012). Comparison of Seven Commercial Antigen and Antibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detection of Acute Dengue Infection. *Clinical and Vaccine Immunology*. p. 804–810.
76. Chaterji S, Allen J.C, Chow A, Leo Y.S, Ooi E.E. Evaluation of the NS1 Rapid Test and the WHO Dengue Classification Schemes for Use as Bedside Diagnosis of Acute Dengue Fever in Adults. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 84(2): 224–228. doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0316.
77. Watthanaworawit W, Turner P, Turner C. L, Tanganuchitcharnchai A, Jarman R. G, et al. (2011). A prospective evaluation of diagnostic methodologies for the acute diagnosis of dengue virus infection on the Thailand-Myanmar border. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 105(1): 32–37. doi: 10.1016/j.trstmh.2010.09.007.
78. Chanhakan S, Butthep P, Yoksan S, Tangnararatchakit K, Chuansumrit A .(2009). Early Diagnosis of Dengue Virus Infection by Detection of Dengue Viral Antigen in Peripheral Blood Mononuclear Cell. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 28(12): 1085-1088.
79. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, et al. (2011) The Diagnostic Sensitivity of Dengue Rapid Test Assays Is Significantly Enhanced by Using a Combined Antigen and Antibody Testing Approach. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 5(6): e1199. doi:10.1371/journal.pntd.0001199.
80. Ty Hang V, Minh Nguyet N, The Trung D, Tricou V, Yoksan S, et al. (2009) Diagnostic Accuracy of NS1 ELISA and Lateral Flow Rapid Tests for Dengue Sensitivity, Specificity and Relationship to Viraemia and Antibody Responses. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3(1): e360. doi:10.1371/journal.pntd.0000360.
81. Tricou V, TT Vu H, Quynh N. VN, Nguyer C. W, Tran H. et al. (2010). Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases*. 10(142): 1-8.
82. Niedrig M, Kürsteiner O, Herzog C, Sonnenberg K. (2008). Evaluation of an Indirect Immunofluorescence Assay for Detection of Immunoglobulin M (IgM) and IgG Antibodies against Yellow Fever Virus. *Clinical and Vaccine Immunology*. 15(2):177-181. doi:10.1128/CVI.00078-07
83. Valéa I, Tinto H, Nikiema M, Yamuah L, Rouamba N. et al. (2009). Performance of OptiMAL-IT compared to microscopy, for malaria detection in Burkina Faso. *Tropical Medicine and International Health*. 14(3): 338-340. doi:10.1111/j.1365-3156.2009.02228.x.

84. Mens P.F, de Bes H. M, Sondo P, Laochan N, Keereecharoen L. et al. (2012). Direct Blood PCR in Combination with Nucleic Acid Lateral Flow Immunoassay for Detection of Plasmodium Species in Settings Where Malaria Is Endemic. *Journal of Clinical Microbiology*. 50(11):3520. doi: 10.1128/JCM.01426-12.
85. Tahar R, Sayang C, Foumane V. N, Soula G, Moyou-Somo R, et al. (2013). Field evaluation of rapid diagnostic tests for malaria in Yaounde, Cameroon. *Acta Tropica* 125(2013): 214-219. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.10.002>.
86. Santana-Morales M. A, Alfonso-Lehmann R.N, Quispe M.A, Reyes F, Berzosa P. et al. (2012). Microscopy and molecular biology for the diagnosis and evaluation of malaria in a hospital in a rural area of Ethiopia. *Malaria Journal*. 11:199.
87. Sharew B, Legesse M, Animut A, Jima D, Medhin G. et al. (2009). Evaluation of the performance of CareStart™ Malaria Pf/Pv Combo and Paracheck Pf® tests for the diagnosis of malaria in Wondo Genet, southern Ethiopia. *Acta Tropica*. 111:321-324. doi:10.1016/j.actatropica.2009.05.014.
88. Mekonnen Z, Ali S, Belay G, Suleman S, Chatterjee S. et al. (2010). Evaluation of the performance of CareStart™ Malaria Pf/Pv Combo rapid diagnostic test for the diagnosis of malaria in Jimma, southwestern Ethiopia. *Acta Tropica*. 113: 285-288.
89. Endeshaw T, Graves P.M, Shargie E. B, Gebre T, Ayele B. et al (2010). Comparison of Parascreen Pan/Pf, Paracheck Pf and light microscopy for detection of malaria among febrile patients, Northwest Ethiopia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 104: 467-474. doi:10.1016/j.trstmh.2010.03.003.
90. Moges B, Amare B, Belyhun Y, Tekeste Z, Gizachew M. et al. (2012). Comparison of CareStart™ HRP2/pLDH COMBO rapid malaria test with light microscopy in north-west Ethiopia. *Malaria Journal*. 11:234. doi:10.1186/1475-2875-11-234.
91. Endeshaw T, Graves P. M, Ayele B, Mosher A. W, Gebre T. et al. (2012). Performance of Local Light Microscopy and the ParaScreen Pan/Pf Rapid Diagnostic Test to Detect Malaria in Health Centers in Northwest Ethiopia. *PLoS ONE* 7(4): e33014. doi:10.1371/journal.pone.0033014.
92. Ashton R. A, Kefyalew T, Tesfaye G, Counihan H, Yadeta D. et al. (2010). Performance of three multi-species rapid diagnostic tests for diagnosis of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax malaria in Oromia Regional State, Ethiopia. *Malaria Journal* 9:297. doi:10.1186/1475-2875-9-297.
93. Mawili-Mboumba D. P, Bouyou M. K, Ngoungou E. B, Kombila M. (2010). Evaluation of rapid diagnostic tests for malaria case management in Gabon. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 66: 162-168. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2009.09.011.

94. Kweka E. J, Lowassa A, Msangi S, Kimaro E.E, Lyatuu E.E. et al. (2011). Low sensitivity of ParaHIT-f rapid malaria test among patients with fever in rural health centers, Northern Tanzania. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 5(3):204-208.
95. Laurent A, Schellenberg J, Shirima K, Ketende S. C, Alonso P. L. et al. (2010). Performance of HRP-2 based rapid diagnostic test for malaria and its variation with age in an area of intense malaria transmission in southern Tanzania. *Malaria Journal*. 9:294. doi:10.1186/1475-2875-9-294.
96. Kabaynze D. J, Tibenderana J.K, Odong G. W, Rwakimari J. B, Counihan H. (2008). Operational accuracy and comparative persistent antigenicity of HRP2 rapid diagnostic tests for Plasmodium falciparum malaria in a hyperendemic region of Uganda. *Malaria Journal*. 7:221. doi:10.1186/1475-2875-7-221
97. Batwala V, Magnussen P, Nuwaha F. (2010). Are rapid diagnostic tests more accurate in diagnosis of plasmodium falciparum malaria compared to microscopy at rural health centres?. *Malaria Journal*. 9:349. doi:10.1186/1475-2875-9-349.
98. Gwanzura L, Mayini J, Mabhanga K, Chipinduro J, Mashamba K. et al. (2011). Evaluation of “Cyscope”, a novel fluorescence-based microscopy technique for the detection of malaria. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 6(2):212-215.
99. Andrade B. B, Reis-Filho A, Barros A. M, Souza-Neto S.M, Nogueira L.L. et al. (2010). Towards a precise test for malaria diagnosis in the Brazilian Amazon: comparison among field microscopy, a rapid diagnostic test, nested PCR, and a computational expert system based on artificial neural networks. *Malaria Journal*. 9:117.
100. DiMaio M.A, Pereira I. T, George T. I, Banaei N. (2012). Performance of BinaxNOW for Diagnosis of Malaria in a U.S. Hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 50(9):2877. Doi: 10.1128/JCM.01013-12.
101. Stauffer W. M, Cartwright C. P. (2009). Superior Diagnostic Performance of Malaria Rapid Diagnostic Tests as compared to Blood Smears in U.S. Clinical Practice. *Clinical Infectious Diseases*. 49(6): 908–913. doi:10.1086/605436.
102. Zerpa N, Pabón R, Wide A, Gavidia M, Medina M. et al. (2008). Evaluation of the OptiMAL® test for diagnosis of malaria in Venezuela. *Investigación Clínica*. 49(1) 1-5.
103. Alam M. S, Mohon A. N, Mustafa S, Khan W. A, Islam N. et al. (2011). Real-time PCR assay and rapid diagnostic tests for the diagnosis of clinically suspected malaria patients in Bangladesh. *Malaria Journal* 10:175.
104. Chou M, Kim S, Khim S, Chy S, Sum S. et al. (2012). Performance of “VIKIA Malaria Ag Pf/Pan” (IMACCESSW), a new malaria rapid diagnostic test for

- detection of symptomatic malaria infections. *Malaria Journal* 11:295. doi:10.1186/1475-2875-11-295.
105. Yan J, Li Nana, Wei X, Li P, Zhao Z. et al. (2013). Performance of two rapid diagnostic tests for malaria diagnosis at the China-Myanmar border area. *Malaria Journal* 12:73. doi:10.1186/1475-2875-12-73.
  106. Xiaodong S, Tambo E, Chun Wei, Zhibin C, Yan Deng et al. (2013). Diagnostic performance of CareStart™ malaria HRP2/pLDH (Pf/pan) combo test versus standard microscopy on falciparum and vivax malaria between China-Myanmar endemic borders. *Malaria Journal* 12:6. doi:10.1186/1475-2875-12-6
  107. Singh N, Shukla M. M, Shukla M. K, Mehdra R. K, Sharma S. et al. (2010). Field and laboratory comparative evaluation of rapid malaria diagnostic tests versus traditional and molecular techniques in India. *Malaria Journal* 9:191. doi: 10.1186/1475-2875-9-191.
  108. Singh N, Bharti P. K, Singh M, Mishra S, Shukla M. M. (2013). Comparative Evaluation of Bivalent Malaria Rapid Diagnostic Tests versus Traditional Methods in Field with Special Reference to Heat Stability Testing in Central India. *PLoS ONE*. 8(3): e58080. doi:10.1371/journal.pone.0058080.
  109. Hada S, Das M. L, Singh Y.I. (2011). Diagnostic methods of malaria in Eastern Nepal: a comparative study of traditional and two rapid diagnostic tests. *Nepal Medical Collage*. 13(4): 261-266.
  110. Shakya G, Gupta R, Pant SD, Poudel P, Upadhaya B. et al. (2012). Comparative Study of Sensitivity of Rapid Diagnostic (Hexagon) Test with Calculated Malarial Parasitic Density in Peripheral Blood. *Journal of Nepal Health Research Council*. 10(20):16-9.
  111. Buppan P, Putaporntip C, Pattanawong U, Seethamchai S. (2010). Comparative detection of Plasmodium vivax and Plasmodium falciparum DNA in saliva and urine samples from symptomatic malaria patients in a low endemic area. *Malaria Journal* 9:72. doi:10.1186/1475-2875-9-72.
  112. Putaporntip C, Buppan P, Jongwutiwes S. (2011). Improved performance with saliva and urine as alternative DNA sources for malaria diagnosis by mitochondrial DNA-based PCR assays. *Tropical and Parasitic Diseases*. 17: 1484–1491. Doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03507.x.
  113. Heutmekers M, Gillet P, Cnops L, Bottieau E, Van Esbroek M. et al. (2012). Evaluation of the malaria rapid diagnostic test SDFK90: detection of both PfHRP2 and Pf-pLDH. *Malaria Journal*. 11:359. doi:10.1186/1475-2875-11-359.
  114. Heutmekers M, Gillet P, Maltha J, Scheirlinck S, Cnops L. et al. (2012). Evaluation of the rapid diagnostic test CareStart pLDH Malaria (Pf-pLDH/pan-pLDH) for the diagnosis of malaria in a reference setting. *Malaria Journal* 11:204. doi:10.1186/1475-2875-11-204.



115. Houzé S, Hubert V, Cohen D, Rivetz B, Le Bras J. (2011). Evaluation of the Clearview® malaria pLDH malaria rapid diagnostic test in a non-endemic setting. *Malaria Journal* 10:284. doi:10.1186/1475-2875-10-284.
116. Manning L, Laman M, Rosanas-Urgell A, Turlach B, Aipit S, et al. (2012) Rapid Antigen Detection Tests for Malaria Diagnosis in Severely Ill Papua New Guinean Children: A Comparative Study Using Bayesian Latent Class Models. *PLoS ONE* 7(11): e48701. doi:10.1371/journal.pone.0048701.
117. Obregón A.M, Fernandez C, Martínez I, Llop Alina, Rodriguez I. (2011). Sistemas serológicos rápidos utilizados para la pesquisa de leptospirosis humana en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 63(3):239-45.
118. Nabity S.A, Ribeiro G.S, Lessa C, Takahashi D, Damiao A.O, et al. (2012) Accuracy of a Dual Path Platform (DPP) Assay for the Rapid Point-of-Care Diagnosis of Human Leptospirosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6(11): e1878. doi:10.1371/journal.pntd.0001878.
119. Céspedes M, Balda Lourdes, Glenny M. (2008). Evaluación de dos ensayos de ELISA IgM en la investigación de un brote de leptospirosis. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25(3):333-35.
120. Shekatkar S, Acharya N. S, Harish B. N, Parija S. C.(2010). Comparison of an in-house latex agglutination test with IgM ELISA and MAT in the diagnosis of leptospirosis. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 28:238-40.
121. Pol S, Bharadwaj R. (2009). Evaluation of High Performance Liquid Chromatography Purified Leptospiral Antigen for the Diagnosis of Leptospirosis. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 62: 428-431.
122. Dey S, Mohan M, Ramadass P, Nachimuthu K. (2008). Diagnosis of leptospirosis by recombinant antigen based single serum dilution ELISA. *Indian Journal of Medical Research*. 128: 172-177.
123. Tanganuchitcharchai A, Smythe L, Dohnt M, Hartskeerl R, Vongsouvath M. et al. (2012). Evaluation of the Standard Diagnostics Leptospira IgM ELISA for diagnosis of acute leptospirosis in Lao PDR. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106 563– 566.
124. Lee S. V, Tai E. S, Mutalib A. R, Khairani-Bejo S, Bahaman A. R.(2011) Rapid detection of pathogenic leptospires by lyophilized reagent-based Polymerase Chain Reaction. *Tropical Biomedicine*. 28(3): 497-505.
125. Desakorn V, Wuthiekanun V, Thanachartwet V, Sahassananda D, Chierakul W. et al. (2012). Accuracy of a Commercial IgM ELISA for the Diagnosis of Human Leptospirosis in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 86(3): 524–527.
126. Limmathurotsakul D, Turner E, Wuthiekanun V, Thaipadungpanit J, Suputtamongkol Y. et al. (2012). Fool's Gold: Why Imperfect Reference Tests Are

Undermining the Evaluation of Novel Diagnostics: A Reevaluation of 5 Diagnostic Tests for Leptospirosis. *Clinical Infectious Diseases Advance Access*. 1-10 doi: 10.1093/cid/cis403.

127. Thaipadunpanit J, Chierakul W, Wuthiekanun V, Limmathurotsakul D, Amornchai P, et al. (2011) Diagnostic Accuracy of Real-Time PCR Assays Targeting 16S rRNA and lipL32 Genes for Human Leptospirosis in Thailand: A Case-Control Study. *PLoS ONE* 6(1): e16236. doi:10.1371/journal.pone.0016236.
128. Villumsen S, Pedersen R, Borre M. B, Ahrens P, Jensen J.S. et al. (2012). Novel TaqMan® PCR for detection of *Leptospira* species in urine and blood: Pit-falls of in silico validation. *Journal of Microbiological Methods*. 91: 184-90. doi:10.1016/j.mimet.2012.06.009.
129. Anaya E, Morón C, Arias P, Chauca J, Román R. (2008). Evaluación De Pruebas De Elisa E Inmunofluorescencia Indirecta Para La Detección De Anticuerpos IgM Contra Rickettsiosis. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25(3):336-39.
130. Pan L, Zhang L, Wang G, Liu Q. (2012). Rapid, simple, and sensitive detection of the ompB gene of spotted fever group rickettsiae by loop-mediated isothermal amplification. *BMC Infectious* 12:254.
131. Phetsouvanh R, Blacksell S, Jenjaroen K, Day N. P, Newton P. (2009). Comparison of Indirect Immunofluorescence Assays for Diagnosis of Scrub Typhus and Murine Typhus Using Venous Blood and Finger Prick Filter Paper Blood Spots. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 80(5):837-840.
132. Kularatne S.A, Gawarammana I.B. (2009). Validity of the Weil-Felix test in the diagnosis of acute rickettsial infections in Sri Lanka. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 103, 423-424. doi:10.1016/j.trstmh.2008.11.020.
133. Watthanaworawit W, Turner P, Turner C, Tanganuchitcharnchai A, Richards A. L. et al. (2013). Short Report: A Prospective Evaluation of Real-Time PCR Assays for the Detection of *Orientia tsutsugamushi* and *Rickettsia* spp. for Early Diagnosis of Rickettsial Infections during the Acute Phase of Undifferentiated Febrile Illness. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 89(2) pp. 308–310. doi:10.4269/ajtmh.12-0600.
134. Kantsø B, Svendsen C. B, Jørgensen C. S, Krogfelt K. A. (2009). Evaluation of serological tests for the diagnosis of rickettsiosis in Denmark. *Journal of Microbiological Methods*. 76 285–288. doi:10.1016/j.mimet.2008.12.012.
135. Santibáñez S, Portillo A, Santibáñez P, Palomar Ana M, Oteo J.A. Usefulness of rickettsial PCR assays for the molecular diagnosis of human rickettsioses. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.08.001>.

136. Angelakis E, Richet H, Rolain J-M, La Scola B, Raoult D (2012) Comparison of Real-Time Quantitative PCR and Culture for the Diagnosis of Emerging Rickettsioses *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6(3): e1540. doi:10.1371/journal.pntd.0001540.
137. Rojo-Marcos G, Cuadros J, Gete, L, Gómez P, López M. et al. (2011). Infección por Plasmodium ovale: descripción de 16 casos y revisión del tema. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 29(3):204-208. doi:10.1016/j.eimc.2010.09.004
138. The Cochrane Collaboration. Trusted evidence. Informed decisions. Better health. <http://www.cochrane.org/>. Revisado Mayo 6 de 2014.