

Seroprevalencia de anticuerpos IgM para zika y chikungunya en la vigilancia nacional de dengue

Seroprevalence of IgM antibodies to Zika and Chikungunya in the national dengue surveillance

Hernández Ávila, Carlos E; Pleités Sandoval, Ernesto

 Carlos E Hernández Ávila
dreavila@gmail.com
Instituto Nacional de Salud, El Salvador
Ernesto Pleités Sandoval
Instituto Nacional de Salud, El Salvador

Alerta
Ministerio de Salud, El Salvador
ISSN-e: 2617-5274
Periodicidad: Semestral
vol. 2, núm. 2, 2019
ralerta@salud.gob.sv

Recepción: 15 Mayo 2019
Aprobación: 26 Julio 2019
Publicación: 31 Julio 2019

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/419/4191898005/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/alerta.v2i2.7743>

Forma recomendada de citar:: Hernández Ávila CE, Pleités Sandoval E. Seroprevalencia de anticuerpos IgM para zika y chikungunya en la vigilancia nacional de dengue. *Alerta*. 2019;2(2):108-116. DOI: 10.5377/alerta.v2i2.7743

Resumen: Introducción. Durante el segundo semestre del año 2016 se observó una negatividad del 95 % en las pruebas de IgM dengue en la vigilancia del nacional del dengue, un comportamiento inusual para el periodo del año y la presencia de arbovirosis en El Salvador. **Objetivos.** Identificar anticuerpos IgM para chikungunya y zika en las muestras de la vigilancia de dengue. **Métodos.** Se analizaron 426 sueros procedentes de los centros de atención de salud del Ministerio de Salud de El Salvador, para la vigilancia del dengue, del periodo comprendido entre la semana epidemiológica 26 a la 52. Los sueros se procesaron con pruebas de ELISA, NovaLisa Zika Virus IgM u-capture y NovaLisa Chikungunya Virus IgM u-capture para determinar la presencia de anticuerpos para chikungunya y zika. El estado de IgM para dengue era conocido previamente. **Resultados.** Se encontró una prevalencia de anticuerpos IgM para arbovirosis diferentes a dengue del 30,8 % (131 de 426 sueros); la prevalencia de IgM para chikungunya fue de 22,3 % (95 de 426 sueros); los anticuerpos IgM para zika fueron el 5,6 % (24 de 426 sueros); se identificaron sueros con anticuerpos para dos arbovirosis en 2,7 % (12 de 426 sueros). **Conclusión.** Durante el segundo semestre del año 2016, en las muestras de vigilancia se confirmó la presencia de IgM para dengue, chikungunya y zika; la mayor prevalencia fue de chikungunya; zika y dengue presentaron similares prevalencias. La vigilancia individual del dengue, chikungunya y zika dificulta la vigilancia integrada de las arbovirosis.

Palabras clave: Arbovirosis, zika, dengue, chikungunya, seroprevalencia.

Abstract: Introduction. During the second semester of 2016, a deficiency of 95 % was observed in dengue IgM tests of the national dengue surveillance, an unusual behavior for the period of the year and the presence of arbovirosis in El Salvador. **Objective.** Identify IgM antibodies for chikungunya and zika in the dengue surveillance samples. **Methodology.** Four hundred twenty six sera were analyzed, from the health care centers of the Ministry of Health of El Salvador, for the surveillance of dengue, from the period between epidemiological week 26 to 52. The sera were processed with ELISA tests, NovaLisa Zika IgM u-capture virus and NovaLisa Chikungunya IgM u-capture virus to determine the presence of antibodies for chikungunya and zika. The IgM status for dengue was previously known. **Results.** A

prevalence of IgM antibodies for arboviruses other than dengue was found of 30,8 % (131 of 426 sera), the prevalence of IgM for chikungunya was 22,3 % (95 of 426 sera), IgM antibodies to Zika were 5,6 % (24 of 426 sera), sera were identified with antibodies for two arboviruses in 2,7 % (12 of 426 sera). **Conclusions.** During the second semester of 2016, in the surveillance samples the presence of IgM for dengue, chikungunya and zika was confirmed, the highest prevalence was chikungunya; zika and dengue presented similar prevalence. Individual surveillance of dengue, chikungunya and zika makes integrated surveillance of arboviruses difficult.

Keywords: Arbovirus, zika, dengue, chikungunya, seroprevalence.

INTRODUCCIÓN

Las arbovirosis son un conjunto de enfermedades virales transmitidas por artrópodos; de ahí su nombre: *Arthropod-Borne viruses*. Las primeras epidemias registradas en América fueron por el virus de la fiebre amarilla en 1647¹. Luego se han presentado de manera cíclica con otras arbovirosis como el virus del dengue, encontrándose registros de epidemias entre los años 1770-1780, en América del Norte². Entre los años 1950-1960 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) realizó una intensa campaña por para eliminar el mosquito *Aedes aegypti*, declarándose la erradicación en algunos países de América.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que cada año se dan entre 100 y 200 millones de personas infectadas por arbovirosis como dengue, poniendo a prueba los sistemas de salud de los países y causando muertes en poblaciones vulnerables. En 2013 se presentó una epidemia de dengue: se registraron 2,3 millones de casos y 1280 muertes en el continente americano³. Estas enfermedades están impulsadas por el crecimiento poblacional, el calentamiento global y la globalización⁴.

La historia de las arbovirosis en El Salvador está ligada a la presencia de la fiebre amarilla. La primera epidemia fue documentada en 1854⁵ y en 1956 el *Aedes aegypti* se consideró erradicado de El Salvador, por consiguiente, también la fiebre amarilla⁶. En 1978 el *Aedes aegypti* regresó a El Salvador con la enfermedad del dengue⁷. A partir de 2014, el panorama de las arbovirosis se hizo más complejo con la presencia en el territorio de la enfermedad por el virus de chikungunya, que tuvo una rápida expansión en el territorio salvadoreño. En el año 2016 ingresó una nueva arbovirosis: la enfermedad producida por el virus del zika, ligada a malformaciones congénitas en recién nacidos y síndromes como el Guillain-Barré. Estas tres arbovirosis (dengue, chikungunya y zika) presentan características clínicas similares⁸, dificultando al clínico el diagnóstico presuntivo para la búsqueda de pruebas de laboratorio para el apoyo diagnóstico^{9,10}.

El Salvador tiene una regulación para el manejo de las arbovirosis en el componente de vigilancia por técnicas de laboratorio. Se caracteriza por vigilar el dengue, chikungunya y zika como entidades separadas. Actualmente están disponibles las técnicas de ELISA y pruebas moleculares como la PCR en tiempo real (RT-PCR)⁹; sin embargo, estos recursos de apoyo diagnóstico han mostrado baja cantidad de pruebas positivas. Estos resultados dificultan ver el panorama de las tres arbovirosis presentes en el país. El desconocimiento del comportamiento de las arbovirosis impide conocer su impacto en la población y adoptar medidas para una vigilancia sustentada en datos de seroprevalencia para cada virus y así optimizar las tecnologías de laboratorio disponibles.

Por esta razón se tomó el año 2016 para analizar las muestras de la vigilancia del dengue en fase de convalecencia, describiendo las características epidemiológicas de los pacientes de los que proceden las

muestras, identificación de la presencia de anticuerpos de los virus chikungunya y zika y documentar su circulación durante el año 2016 a partir de la presencia de anticuerpos IgM.

METODOLOGÍA

Sitio de estudio

El Salvador está situado en la costa del Océano Pacífico, en Centroamérica. Es clasificado como un país en vías de desarrollo, con una extensión territorial de 21 041 Km². Su densidad poblacional es de 309 hab/km²¹¹, situándolo como el país más poblado del continente americano. Limita al noreste con Honduras, al noroeste con Guatemala y al sur con el Océano Pacífico.

El sistema de salud está organizado en cinco regiones: occidental, centro, metropolitana, paracentral y oriental. El Ministerio de Salud (Minsal) brinda atención preventiva y curativa al 73 % de los salvadoreños; el resto es cubierto por sistemas de seguridad social. En el año 2009 se inició un proceso de reforma en salud siguiendo los principios de Alma Ata, basado en la atención primaria en salud y con el apoyo técnico de la OPS.

El diagnóstico de las arbovirosis se encuentra centralizado en el Laboratorio Nacional de Salud Pública (LNSP) y se cuenta con pruebas de IgM ELISA para dengue, zika y chikungunya y pruebas de diagnóstico molecular PCR en tiempo real de tipo singleplex y multiplex. Las muestras sospechosas de dengue son referidas de todo el país y niveles de atención al LNSP, siguiendo el procedimiento operativo estándar para manejo de muestras. Según sus días de evolución, las muestras de pacientes en etapa convaleciente son tratadas con pruebas de ELISA y RT-PCR en las agudas y pacientes en estado grave. Las pruebas de zika y chikungunya son aplicadas a grupos específicos de riesgo, niños y embarazadas. La prueba se aplica según el grupo poblacional y sospecha diagnóstica indicada por el profesional que brindó la atención.

Muestras de suero

Se realizó un estudio descriptivo de seroprevalencia a partir del 100 % de las muestras recibidas en el LNSP durante el segundo semestre del año 2016 como sospechosas de dengue. Luego de aplicar los criterios de selección se localizaron 438 muestras bajo condiciones de ultra frío (-70° C). Todas las muestras contaban con resultados de pruebas de ELISA IgM para dengue y se aplicaron los criterios de selección, encontrándose 426 aptas para investigación. Se excluyeron doce muestras por el volumen insuficiente de la muestra y se aplicaron las pruebas de ELISA IgM de forma paralela tanto a las pruebas con resultado IgM positivo como negativo para dengue.

Tratamiento de datos

Los datos fueron digitados en una plantilla del programa Excel e importados al programa Epi Info versión 7 para la producción de las tablas de frecuencias. La edad fue recodificada a grupos etarios por decenios, a excepción el primer decenio, el cual se dividió en dos quinquenios: el primero de menores de cinco años y el segundo de cinco a diez años. Lo anterior con la finalidad de apreciar mejor las diferencias en cada grupo.

Las prevalencias de anticuerpos fueron calculadas tomando en cuenta las muestras viables (426). Se calcularon prevalencias según grupo etario, tomando como denominador el total de las muestras procesadas para cada grupo.

Para obtener el porcentaje de positividad a partir de la detección de cada anticuerpo, se sumaron las frecuencias de cada anticuerpo identificado y se calculó el porcentaje utilizando como denominador las muestras procesadas cada semana. Se agruparon en tres categorías: indeterminadas, que incluye aquellas que no alcanzaron el punto de corte establecido por el fabricante de la prueba; las positivas a cualquier arbovirosis se sumaron; y las negativas fueron aquellas en las que no se pudo identificar ningún anticuerpo. Con estos resultados se construyó un gráfico de barras para representar los porcentuales por semana epidemiológica para describir el comportamiento de la semana 26 a la 52.

Los días de inicio de síntomas fueron calculados a partir de la resta entre fecha de toma de muestra y fecha de inicio de síntomas. El resultado fue recodificado a intervalos de semanas.

Pruebas de ELISA

Las muestras fueron procesadas por el personal de la sección de virología del LNR, se utilizaron las pruebas de IgM, NovaLisa Zika Virus IgM u-capture y NovaLisa Chikungunya Virus IgM u-capture, ambas de la marca NovaTec Immundiagnóstica GmbH. La sensibilidad reportada para las pruebas de zika fue de 100 % (95 % IC 71,5 % – 100 %) ¹², especificidad de la prueba 98,6 % (95 % IC 95,11 % – 99,83 %). Para chikungunya sensibilidad 100 % (95 % IC 96,19 % -100 %) y una especificidad de 100 % (IC 95 % 95,01 % – 100 %) ¹³. se aplicaron los protocolos establecidos por los fabricantes.

Principios éticos

El protocolo fue sometido al Comité Nacional de Ética de Investigación en Salud de El Salvador, con acta de aprobación número 19/2018. No se utilizó información que pueda identificar al paciente.

RESULTADOS

Las muestras presentaron una distribución homogénea respecto al sexo. La región de salud que aportó una mayor cantidad de casos fue la metropolitana, seguida de la central y paracentral. El grupo etario con mayor concentración de muestras fue el de menores de cinco años, seguido del grupo de 10-15 años. El 95 % de las muestras se recibieron en la primera y segunda semana de inicio de síntomas, como se observa en la Tabla 1.

El porcentaje de positividad de las muestras en estudio osciló entre el 11 y 41 %, con un máximo entre la semana 44 y 45. Las muestras negativas oscilaron entre 51 y 88 %, con mayor negatividad en la semana 50-52, como se observa en la Figura 1.

Detección de anticuerpos zika y chikungunya

Un total de 426 muestras fueron procesadas para IgM de zika y chikungunya; se identificaron anticuerpos en un 30,8 % de las muestras. En el caso de IgM para zika fueron positivas 25 muestras; IgM para chikungunya, 95 muestras (Tabla 2). Se encontró un grupo de 11 muestras con anticuerpos simultáneos para zika y chikungunya. Las edades de los sujetos de este grupo fueron menores de 20 años (Tabla 3).

Los anticuerpos IgM para chikungunya fueron los que presentaron mayores prevalencias y número de muestras positivas a IgM en todos los grupos etarios estudiados.

Comparación de estado previo y reprocesamiento

Al contrastar el estado conocido previamente de dengue se encontró una muestra con reactividad a IgM zika y dengue de una persona menor de 1 año de edad, del sexo femenino, procedente de la región de salud occidental. En el 5,6 % de las muestras negativas a dengue se encontraron IgM para zika y en un 21 % de las muestras se identificaron IgM para chikungunya (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Durante el año 2016 se identificaron anticuerpos IgM para dengue, chikungunya y zika. El grupo de edad con mayor frecuencia fueron los jóvenes, como en otros países endémicos^{14,15}, pues las probabilidades de exposición en este grupo son menores, convirtiéndose en susceptibles de infección por alguno de los flavivirus presentes en el país.

La mayor cantidad de anticuerpos IgM detectados fueron para el virus del chikungunya; representaron la quinta parte de las muestras negativas para dengue. Las IgM para zika solo representaron un 6 %. Con base en otros estudios, se puede inferir que la circulación de zika fue mayor al encontrado en este, debido a que solo el 20 % de los pacientes infectados con zika presentan sintomatología clínica^{16,17}. Una limitación del estudio es que solo utilizó muestras procedentes de la vigilancia del dengue, con cuadro clínico compatible con dengue.

La alta prevalencia de anticuerpos IgM para chikungunya se explica por la acumulación de una cohorte de personas susceptibles al virus del chikungunya, justificado a que este virus ingresó al país dos años previos al estudio, mientras que el virus del zika ingresó un año después¹⁸. Estas son hipótesis para futuros estudios y estimar modelos del comportamiento de las arbovirosis a partir de la vigilancia. Con los datos recopilados no es posible por las limitantes caracterizadas por la estacionalidad de las arbovirosis, además de solo realizar el análisis de un semestre del año con muestras obtenidas a partir de la definición de caso de dengue.

La serología mostró un porcentaje de pacientes que presentaron respuesta inmunológica al virus de zika y chikungunya, que puede explicarse por la infección de ambas enfermedades durante un periodo reciente^{19,20}. En 11 muestras se encontraron IgM reactivas a zika; sin embargo, no puede asegurarse su etiología mediante la tecnología aplicada por las respuestas cruzadas descritas en las IgM, debido a la similitud genética de estos flavivirus de alrededor del 60 % y similitud antigénica^{16,21}.

Al realizar la aplicación algoritmo para el diagnóstico por laboratorio de los casos sospechosos de infección por arbovirus en fase convaleciente, recomendado por la OPS, se obtuvieron 18 muestras presuntivas de dengue; una muestra se clasificó como infección por flavivirus y 24 muestras presuntivas de zika²². Se excluyen de este algoritmo las muestras positivas a chikungunya por su diferencia antigénica.

En un 3 % no se pudo determinar los anticuerpos pues no alcanzaron los puntos de corte establecidos por los fabricantes. En futuros estudios deben contemplarse otras técnicas de laboratorio tomando la historia de las arbovirosis del país. La técnica actual de neutralización de anticuerpos en placa no es viable²⁰ y debido a la endemicidad de las arbovirosis en el país se vuelve compleja su interpretación.

Dentro de las limitaciones del estudio se puede tomar en cuenta que se parte de pacientes con sintomatología compatible con la definición de caso de sospecha de dengue y cantidad de muestras derivadas por la vigilancia^{23,24}. Se han excluidos los grupos con sintomatología compatible con zika y chikungunya y otras enfermedades que cursan con sintomatología similar. La negatividad final de estas muestras fue de 69 %.

En otros estudios realizados con mayores recursos tecnológicos llega a un 53 %²⁰. Investigadores de Brasil disminuyeron la negatividad en un 10 % utilizando técnicas moleculares al considerar a pruebas NS1 negativas como las falsas negativas. Esta situación debería valorarse para mejorar la vigilancia de las arbovirosis²⁵.

En el año en estudio circularon las arbovirosis dengue, chikungunya y zika. Su cuadro clínico fue similar al del dengue basado en los documentos que rigen la vigilancia en El Salvador y otros países. La brecha diagnóstica presuntiva se mejoró en un 30 % utilizando serología, con las limitaciones de no poder aclarar el agente etiológico, permitiendo acercarse a un panorama más completo de las arbovirosis en El Salvador.

Otro elemento a tomar en cuenta es que el origen de la muestra procede de los consultantes a servicios de salud. Esto impide tomar el dato como un valor para inferir el comportamiento de las arbovirosis a nivel de población general, pero da luces del comportamiento de las arbovirosis prevalentes en El Salvador. La detección de anticuerpos para las tres arbovirosis se traslapan clínicamente. Lo anterior obliga a evaluar las tres enfermedades en el sistema de vigilancia de las arbovirosis, para optimizar los recursos de laboratorio según los recursos tecnológicos y financieros disponibles en cada país, así como el modelo de la vigilancia centinela de arbovirosis basada en pruebas virales desarrollada por varios países^{26,27,28}.

CONCLUSIONES

En el 2016 las muestras catalogadas como negativas para serología del dengue fueron positivas por IgM a los virus de chikungunya y zika, concentrándose en las poblaciones menores de 15 años.

Se evidenció, mediante la respuesta inmunológica, a dos familias virus flavivirus y togavirus en un mismo individuo. En el caso de los flavivirus es limitada la interpretación de las pruebas por la inmunidad cruzada que presentan zika y dengue.

Esta situación podría beneficiarse de un manejo integrado de las arbovirosis como en el modelo de vigilancia centinela, incluyendo representación de cada nivel asistencial en muestras de fase aguda (viroológicas) y convaleciente (ELISA) y así optimizar los recursos en la vigilancia laboratorial, fortalecida con técnicas probabilístico en las muestras sospechosas de arbovirosis y ampliar la búsqueda de otros agentes causales.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores expresan no contar con conflictos de intereses. Los fondos de la investigación fueron proporcionados por el Ministerio de Salud de El Salvador.



FIGURA 1
Detección de anticuerpos IgM para arbovirus en porcentajes según semana epidemiológica
Elaboración propia a partir de los datos

TABLA 1
Características de las muestras en estudio

Variable	Frecuencia	Porcentaje	IC 95%
Sexo			
Femenino	218	50.6	45.9 - 55.3
Masculino	213	49.4	44.7 - 54.1
Total	431	100	
Región de salud			
Región de salud Occidental	44	10.2	7.7 - 13.4
Región de salud Central	93	21.6	18.0 - 25.7
Región de salud Metropolitana	176	40.8	36.3 - 45.5
Región de salud Paracentral	63	14.6	11.6 - 18.3
Región de salud Oriental	55	12.8	9.9 - 16.2
Total	431	100	
Edad en años			
Menor a 5 años	113	26.2	22.3 - 30.6
5 a 10	80	18.6	15.2 - 22.5
10 a 20	81	18.8	15.4 - 22.8
20 a 30	69	16.0	12.8 - 19.8
30 a 40	38	8.8	6.5 - 11.9
40 a 50	22	5.1	3.4 - 7.6
50 a 60	15	3.5	2.1 - 5.7
60 y más	13	3.0	1.8 - 5.1
Total	431	100	
Días de inicio de síntomas			
De 5 a 7 días	271	62.9	58.2 - 67.3
7 a 14	139	32.3	28.0 - 36.8
14 a 21	12	2.8	1.6 - 4.8
21 a 28	2	0.5	0.1 - 1.7
Mayor de 28 años	7	1.6	0.8 - 3.3
Total	431	100	

Elaboración propia a partir de los datos

TABLA 2
Resultados de procesamientos

Procesamiento	Frecuencia	Porcentaje	
Muestras viables*	426	100	
Muestras IgM negativas a dengue, chikungunya, zika	295	69.2	
Muestras con identificación de algún anticuerpo	131	30.8	
IgM detectadas	Frecuencia	Porcentaje	Prevalencia
Chikungunya	95	72.5	22.3
Zika	24	18.3	5.6
Chikungunya, zika	10	7.6	2.3
Chikungunya, zika, dengue	1	0.8	0.2
Zika, dengue	1	0.8	0.2
Total	131	100	30.8

Elaboración propia a partir de los datos

TABLA 3
Prevalencia de anticuerpos IgM según tipo de arbovirosis y grupo etario

Anticuerpos IgM (prevalencia)				
Dengue	Zika	Chikungunya	Chikungunya y zika	Total de muestras
6 (5.31)	5 (4.42)	17 (15.04)	1 (0.88)	113
3 (3.75)	8 (10)	26 (32.50)	4 (5.00)	80
6 (7.41)	5 (6.17)	27 (33.33)	4 (4.94)	81
3 (4.35)	2 (2.90)	13 (18.84)	1 (1.45)	69
-	2 (5.26)	5 (13.16)	-	38
3 (13.64)	3 (13.64)	3 (13.64)	1 (4.55)	22
-	-	2 (13.33)	-	15
-	-	2 (15.87)	-	13

Elaboración propia a partir de los datos

TABLA 4
Pareo de estado anticuerpos IgM para dengue, zika y chikungunya

Pruebas Elisa IgM	Zika(+)	Zika(-)	Total
Dengue(+)	1	18	19
Dengue(-)	24	383	407
Total	25	401	426

Pruebas Elisa IgM	Chik(+)	Chik(-)	Total
Dengue(+)	5	12	17
Dengue(-)	90	319	409
Total	95	331	426

Elaboración propia a partir de los datos

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yellow Jack and Geopolitics: Environment, Epidemics, and the Struggles for Empire in the American Tropics, 1650–1825 | OAH Magazine of History | Oxford Academic. <https://aca-demic.oup.com/maghis/article-abstract/18/3/9/1034950?redirectedFrom=fulltext>. Accessed July 5, 2019.
2. Hoja de datos sobre el dengue - Dengue - CDC en Español. <https://www.cdc.gov/spanish/enfermedades/dengue/hoja-datos.htm>. Accessed July 5, 2019.
3. OPS/OMS. Dengue. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=9469:dengue&Itemid=40721&lang=es.
4. Mayer SV, Tesh RB, Vasilakis N. The emergence of arthro-pod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. *Acta Trop.* 2017;166 (Supplement C):155-163. DOI:10.1016/j.actatropica.2016.11.020.
5. Salvador PL. Estudio de un foco accidental de fiebre amarilla en el Golfo de Fonseca. *Archivos Hosp Rosales.* 1919;10(9):1181-1200.
6. Pinto Severo O. Evolución de la campaña a ti-Aegypti en los últimos diez años. *Bol Oficina Sanit Panam.* 1958;XLV(37):377.
7. Gratz NG, Knudsen AB, Diseases WHOD of C of T. The rise and spread of dengue, dengue haemorrhagic fever and its vectors : a historical review (up to 1995). 1996. <http://www.who.int/iris/handle/10665/64454>. Accessed November 20, 2017.
8. Katzelnick LC, Gresh L, Halloran ME, et al. Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans. *Science.* November 2017;eaan6836. DOI:10.1126/science.aan6836.
9. Phoutrides EK, Coulibaly MB, George CM, et al. Dengue virus seroprevalence among febrile patients in Bamako, Mali: re-sults of a 2006 surveillance study. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(11):1479-1485. DOI:10.1089/vbz.2011.0622.
10. Aralí Martínez-Vega R, Díaz-Quijano FA, Villar-Centeno LA. Low concordance between early clinical suspicion of dengue and its serological confirmation. *Rev Médica Chile.* 2006;134(9):1153-1160. DOI:10.4067/S0034-98872006000900010.
11. Digestyc. Documentos - DIRECCION GENERAL DE ESTADISTICA Y CENSOS. <http://www.digestyc.gob.sv/index.php/temas/des/poblacion-y-estadisticas-demograficas/vitales/documentos-vitales.html>. Accessed May 27, 2018.
12. Zika Virus IgM μ -capture - ELISA - NovaTec Immundiagnostica GmbH. <https://www.novatec-id.com/products/novalisa/product/zika-virus-igm-m-capture.html>. Accessed July 1, 2019.
13. Chikungunya Virus IgM μ -capture - ELISA - NovaTec Immundiagnostica GmbH. <https://www.novatec-id.com/products/novalisa/product/chikungunya-virus-igm-m-capture.html>. Accessed July 1, 2019.
14. Thai KTD, Binh TQ, Giao PT, et al. Seroprevalence of dengue antibodies, annual incidence and risk factors among children in southern Vietnam. *Trop Med Int Health.* 2005;10(4):379-386. DOI:10.1111/j.1365-3156.2005.01388.
15. Balmaseda A, Hammond SN, Tellez Y, et al. High seroprevalence of antibodies against dengue virus in a prospective study of schoolchildren in Managua, Nicaragua. *Trop Med Int Health.* 2006;11(6):935-942. DOI:10.1111/j.1365-3156.2006.01641.
16. Duffy MR, Chen T-H, Hancock WT, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360(24):2536-2543. DOI:10.1056/NEJMoa0805715.
17. Subissi L, Daudens-Vaysse E, Cassadou S, et al. Revising rates of asymptomatic Zika virus infection based on sentinel surveillance data from French Overseas Territories. *Int J Infect Dis.* 2017;65:116-118. DOI:10.1016/j.ijid.2017.10.009.

18. Zhang Q, Sun K, Chinazzi M, et al. Spread of Zika virus in the Americas. *Proc Natl Acad Sci*. 2017;114(22):E4334-E4343. DOI:10.1073/pnas.1620161114.
19. Priyamvada L, Hudson W, Ahmed R, Wrammert J. Humoral cross-reactivity between Zika and dengue viruses: implications for protection and pathology. *Emerg Microbes Infect*. 2017;6(5):e33. DOI:10.1038/emi.2017.42.
20. Lindsey NP, Staples JE, Powell K, et al. Ability to serologically confirm recent zika virus infection in areas with varying past incidence of dengue virus infection in the United States and U.S. territories in 2016. *McAdam AJ, ed. J Clin Microbiol*. 2017;56(1). DOI:10.1128/JCM.01115-17.
21. Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. *Nat Immunol*. 2016;17(9):1102-1108. DOI:10.1038/ni.3515.
22. OPS. Instrumento para el diagnóstico y la atención a pacientes con sospecha de arbovirosis. Washington, DC: OPS; 2016. http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/31448/9789275319369_spa.pdf?sequence=5&isAllowed=y.
23. Ministerio de Salud. Lineamientos técnicos para la atención integral de personas con zika. 2016. http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/lineamientos/lineamientos_tecnicos_atencion_integral_zika_v2.pdf.
24. Ministerio de Salud. Lineamientos técnicos para el abordaje del dengue. 2012. http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/lineamientos/Lineamientos_tecnicos_para_el_abordaje_del_dengue_agosto_2012.pdf.
25. Acosta POA, Granja F, Meneses CA, et al. False-negative dengue cases in roraima, Brazil: an approach regarding the high number of negative results by NS1 AG kits. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2014;56(5):447-450. DOI:10.1590/S0036-46652014000500014.
26. Tissera H, Amarasinghe A, Gunasena S, et al. Laboratory-Enhanced dengue sentinel surveillance in Colombo District, Sri Lanka: 2012-2014. *Bingham A, ed. PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(2):e0004477. DOI:10.1371/journal.pntd.0004477.
27. Hadler JL, Patel D, Nasci RS, et al. Assessment of arbovirus surveillance 13 years after introduction of West Nile Virus, United States1. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(7):1159-1166. DOI:10.3201/eid2107.140858.
28. Wahnich A, Clark S, Bloch D, et al. Surveillance for mosquito-borne transmission of Zika virus, New York City, NY, USA, 2016. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(5):827-834. DOI:10.3201/eid2405.170764.