

Dengue en zonas inundables de Villahermosa, México

Alejandro Jiménez-Sastré,⁽¹⁾ Xavier Miguel Boldo-León,⁽¹⁾ Heberto Romeo Priego-Alvarez,⁽¹⁾ Elsy del Carmen Quevedo-Tejero,⁽¹⁾ Marco Antonio Zavala-González⁽¹⁾

zgma_51083@yahoo.com.mx

RESUMEN

Objetivo. Obtener la seroprevalencia y la geolocalización de casos de fiebre de dengue en zonas de riesgo por inundación de Villahermosa, Tabasco, en el año 2010. **Material y métodos.** Diseño: transversal. Universo: 15,834 sujetos, distribuidos en cinco colonias con antecedentes de anegación: Gaviotas Norte, Gaviotas Sur, La Manga 1ª Sección, La Manga 2ª Sección y La Manga 3ª Sección. Muestra: probabilística por conglomerados. Criterios de selección: sujetos con al menos un año de residencia en las colonias. Variables: edad, sexo, ubicación, fiebre de dengue. Procedimientos: se tomó muestra sanguínea para determinar prevalencia de anticuerpos IgG e IgM contra denguevirus mediante prueba rápida inmunocromatográfica Hexagon Dengue (Human), posteriormente, se seleccionaron sujetos con signos y síntomas compatibles con fiebre de dengue, y se realizó búsqueda del antígeno mediante prueba de Elisa de NS1 (BioRad) y RT-PCR. Análisis: estadística descriptiva. Software: SPSS© versión 11.0. **Resultados.** 571 sujetos, distribuidos en: 17.5% La Manga 1ª Sección, 19.6% La Manga 2ª Sección, 21.2% La Manga 3ª Sección, 20.0% Gaviotas Sur, 21.7% Gaviotas Norte. Se encontraron 17 positivos a IgG (2.9%) y 7 a IgM (1.2%), y entre éstos, 2 a ambas inmunoglobulinas (0.3%). La geolocalización guardó correspondencia con la cercanía a tres cuerpos de agua dulce: Río Grijalva, Laguna El Encanto y Laguna La Majagua. No se encontraron casos positivos a antígenos. **Conclusión.** La seroprevalencia en la zona fue menor a la esperada. Es necesario reforzar las medidas preventivas en zonas cercanas a cuerpos de agua dulce por constituir áreas potenciales de brote de la enfermedad.

Palabras claves: Fiebre de dengue, desastres, inundaciones, seroprevalencia, geolocalización, epidemiología descriptiva.

SUMMARY

Aim. To obtain seroprevalence and geolocalization of dengue fever cases inundation risk zones from Villahermosa, Tabasco, in 2010. **Material and methods.** Design: cross-sectional. Universe: 15,834 subjects, distributed in five colonies with flooded antecedents: Gaviotas Norte, Gaviotas Sur, La Manga 1st Section, La Manga 2nd Section and La Manga 3rd Section. Sample: randomized for conglomerates. Selection criteria: subjects with one year of residence in the colonies or more. Variables: age, gender, localization, dengue fever. Procedures: we took blood sample for prevalence determination of IgG and IgM antibodies versus denguevirus by mean of immunochromatographic fast test Hexagon Dengue (Human), after, we selected subjects with dengue fever signs and symptoms, and we requested antigens by mean of Elisa test NS1 (BioRad) and RT-PCR. Analysis: descriptive statistic. Software: SPSS© version 11.0. **Results.** 571 subjects, distributed in: 17.5% La Manga 1st Section, 19.6% La Manga 2nd Section, 21.2% La Manga 3rd Section, 20.0% Gaviotas Sur, 21.7% Gaviotas Norte. We found 17 positives to IgG (2.9%) and 7 to IgM (1.2%), and between both, 2 to both immunoglobulins (0.3%). The geolocalization was compatible with proximity to three sweet water bodies: Grijalva River, El Encanto Lake and La Majagua Lake. We don't found positive cases to antigens. **Conclusions.** The seroprevalence in the zone was minor than hope so. To increase preventive measures in proximate zones to sweet water bodies is necessary for to be this potential zones of emergence of the disease.

Keywords: Dengue fever, disasters, inundations, seroprevalence, geolocalization, descriptive epidemiology.

⁽¹⁾ División Académica de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos cinco años, América Latina ha experimentado un aumento inusitado de casos de fiebre de dengue y dengue hemorrágico. El número de casos se incrementó de 267 mil en 2003 a más de 550 mil en 2006. La mayor proporción correspondió a Brasil, que ha llegado a contribuir con más de la mitad de lo notificado cada año, seguido en orden de frecuencia por Colombia, Venezuela, Honduras y México.¹⁻⁵

Pese a que en México se ha establecido un programa de acción permanente de alcance nacional, con estrategias operativas orientada a la vigilancia, prevención y control de la fiebre de dengue, durante los últimos quince años se han presentado brotes epidémicos nacionales en los años 1997, 2002 y recientemente en el 2004.⁶

Durante la última década, la Secretaría de Salud (México) ha puesto especial énfasis en el conocimiento de la seroprevalencia de los denguevirus, a nivel nacional se ha reportado la presencia de los cuatro serotipos, sin embargo, los más comunes son el Den1 y Den2.⁷ En este orden de ideas, en Tabasco, en el año 2005, la prevalencia de IgG contra el dengue fue de 9.1%, siendo los serotipos más frecuentes el Den2 y el Den4.⁸ Mientras que en un municipio de Veracruz, en el año 2003, se observó una seroprevalencia de 79.6%.⁹ En tanto que la ciudad de Colima, en el período 2001-2002, se reportó en una cohorte una seroprevalencia de 1.77%.¹⁰

La mejor medida de prevención de fiebre de dengue para residentes en zonas de riesgo, es eliminar los lugares en donde el mosquito pone sus huevos, prevenir las picaduras y realizar fumigación periódica.¹¹ Estas acciones son promovidas y/o realizadas por la Secretaría de Salud, a través del "Programa de Acción Específico contra el Dengue", desarrollado por la Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud.¹²

Por su clima trópico-húmedo,¹³ Tabasco es uno de los Estados con mayor prevalencia de fiebre de dengue en México, la mayor incidencia del padecimiento a lo largo del año, se suele presentar en agosto y septiembre, meses de mayor precipitación pluvial, aunque se prevee que debido al cambio climático, esta estacionalidad cambiará eventualmente hacia los meses de octubre y noviembre,^{14,15} durante los cuales se han suscitado las inundaciones que desde el 2007 han afectado al Estado de Tabasco.

En cuatro años de experiencia en el enfrentamiento de desastres hidrometeorológicos, se tienen claramente identificadas las colonias afectadas por dichos fenómenos, por lo que las medidas de prevención de enfermedades transmitidas por vector, como la fiebre de dengue, son particularmente reforzadas por la Secretaría de Salud para evitar brotes potencialmente epidémicos, no obstante, a la fecha se sabe que pese a las medidas preventivas existen

casos de fiebre de dengue dentro de las zonas en cuestión, lo que lleva a pensar en la necesidad de ubicar áreas de peligro dentro de zonas de riesgo para el brote de esta enfermedad.

Considerando el contexto descrito, surgió la pregunta ¿cuál fue la seroprevalencia y la geolocalización de los casos de fiebre de dengue en zonas de riesgo por inundación de Villahermosa, Tabasco, en el año 2010? Por lo que para dar respuesta a tal interrogante, se realizó la presente investigación con el objetivo de obtener la seroprevalencia y la distribución geográfica de los casos de fiebre de dengue en zonas de riesgo por inundación de Villahermosa, Tabasco, en el año 2010.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Se realizó un estudio de transversal, descriptivo, en donde el universo de estudio estuvo constituido por cinco colonias con antecedentes de anegación durante las inundaciones del Estado de Tabasco, ubicadas en la Ciudad de Villahermosa: 1) Gaviotas Norte, 2) Gaviotas Sur, 3) La Manga 1ra Secc., 4) La Manga 2da Secc., y 5) La Manga 3ra Secc.

Universo, muestra y muestreo

El universo de colonias enunciadas anteriormente, estuvo conformado por 15,834 habitantes distribuidos en 5,278 viviendas, distribuidos conforme se exponen en el Cuadro 1.

CUADRO 1. Número de habitantes y viviendas por colonia.

Colonia	Habitantes	Viviendas
La Manga 1ª Sección	477	159
La Manga 2ª Sección	999	333
La Manga 3ª Sección	3381	1127
Gaviotas Sur	1200	400
Gaviotas Norte	9777	3259
Sumatoria	15834	5278

Fuente: Jurisdicción Sanitaria No. 4. Secretaría de Salud del Estado de Tabasco, 2010.

Se estudió una muestra probabilística por conglomerados, considerando las cifras tanto de habitantes como de viviendas, empleando la fórmula para el estudio de variables cualitativas en universos finitos.¹⁶

$$n = \frac{NZ^2 pq}{d^2(N-1) + Z^2 pq}$$

En donde de acuerdo a lo reportado por Sánchez-Burgos y cols.,⁸ se consideró una $p=0.09$ ($q=0.91$), admitiéndose un nivel de confianza de 95% ($Z=1.96$) y un error máximo de 5% ($d=0.05$). Obteniéndose los tamaños de muestra que se presentan en el Cuadro 2.

CUADRO 2. Muestra de habitantes y viviendas por colonia.

Colonia	Viviendas		Habitantes	
	N	n	N	n
La Manga 1ª Sección	159	71	477	100
La Manga 2ª Sección	333	92	999	112
La Manga 3ª Sección	1127	113	3381	121
Gaviotas Sur	400	96	1200	114
Gaviotas Norte	3259	121	9777	124
Sumatoria	5278	492	15834	571

Fuente: De "N", Jurisdicción Sanitaria No. 4, Secretaría de Salud del Estado de Tabasco, 2010; de "n", cálculos realizados con SPSS versión 11.0 para entorno Windows.

Las muestras obtenidas, fueron seleccionadas aleatoriamente por medio del método de números aleatorios obtenidos por ordenador, asignando número progresivo a las viviendas de acuerdo a la cartografía proporcionada por la Secretaría de Salud del Estado de Tabasco. Se incluyeron sujetos de cualquier edad y sexo con al menos un año de residencia en las colonias indicadas, que se encontraron en su domicilio durante el mes de Octubre de 2010.

VARIABLES, INSTRUMENTOS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN

Se estudiaron las variables: edad, sexo, ubicación y caso de fiebre de dengue. La información correspondiente a las variables edad, sexo y ubicación fueron obtenidas mediante interrogatorio directo, siendo corroborada la ubicación cotejando el número del domicilio de los sujetos y la calle sobre la que se levantó la encuesta. La determinación de los casos positivos de IgM e IgG específicas para denguevirus se realizó en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la División Académica de Ciencias de la Salud (DACS) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), mediante la prueba rápida inmunocromatográfica Hexagon Dengue (Human), considerando el resultado como negativo si una sola línea de color rojo-violeta apareció en la parte superior de la ventana de resultado en el espacio correspondiente a la línea de control (C), la aparición de esta línea indicó también la realización correcta de la prueba y el funcionamiento apropiado de los reactivos. El resultado positivo fue considerado cuando una o dos bandas de color adicional a la de control apareció en el espacio de la línea G (positivo para IgG) o en el de la línea M (positivo para IgM). En tanto que se consideró la prueba como inválida si no apareció la

línea de control, aún si aparecía alguna línea positiva para IgG o IgM, en cuyo caso la prueba debió repetirse.

Posteriormente, se seleccionaron a los pacientes en quienes se encontraron signos y síntomas compatibles con fiebre de dengue, y se les realizó búsqueda intencionada del antígeno mediante la prueba de Elisa de NS1 (BioRad). Para interpretar los resultados de las reacciones, se realizó una relación entre la densidad óptica de la muestra y el valor umbral del calibrador. Una relación menor de 0.50 es un resultado negativo, ya que la muestra es considerada no reactiva para el antígeno NS1 del virus dengue. Mientras que una relación entre 0.5 y menor de 1.0 es un resultado equívoco, ya que la muestra es considerada dudosa para el antígeno NS1 del virus dengue. En tanto que una relación igual o mayor de 1.0 es un resultado positivo, ya que la muestra es considerada reactiva para el antígeno NS1 del virus dengue.

El serotipo infectante se determinó mediante RT-PCR:¹⁷⁻²⁰ 2.5 μ l de PCR buffer 10X sin Mg (Promega Cat. M1665), 2.5 μ l MgCl₂ 25 mM (Promega Cat. M1665), 1.0 μ l dNTP Mix 10 mM c/u (Promega Cat. C1141), 1.25 μ l DTT 100 mM (Invitrogen Cat. 18057-018), 1.0 μ l Inhibidor de RNAsas 40 U/ μ l (Promega Cat. N2511), 0.5 μ l Oligonucleótido D1 10 μ M, 0.5 μ l Oligonucleótido D2 10 μ M, 0.1 μ l Transcriptasa reversa (Promega Cat. A3801), 0.2 μ l Taq DNA polimerasa 5 U/ μ l (promega cat M1665), por cada reacción se agregaron 2.5 μ l de RNA. El volumen final de la reacción se ajustó a 25 μ l. La reacción de RT-PCR se realizó en un solo paso mediante el siguiente programa: 42°C/1hr; 30 ciclos de 94°C/30seg; 55°C/1min; 72°C/2min y una extensión final de 72°C/7min. Para realizar el diagnóstico específico del serotipo mediante la amplificación de productos de 482, 119, 290, 392 pb para los virus Den-1, Den-2, Den-3 y Den-4 respectivamente, se preparó otra mezcla sin el inhibidor de RNAsas, el DTT y la enzima transcriptasa reversa, el oligonucleótido D2 se cambió por uno de los oligonucleótidos TS1-TS4. La reacción de PCR anidada se llevó a cabo mediante las siguientes especificaciones 30 ciclos de 94°C/30seg; 55°C/1min; 72°C/2min y una extensión final de 72°C/7min. Esta prueba ha reportado una tasa de detección de 95.9%, según lo reportado por Huhtamo et al.¹⁹

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para la recolección de información, se capacitó a un grupo de 20 estudiantes de medicina de la UJAT para el levantamiento de los datos, la toma de muestra sanguínea y el transporte de ésta. Durante Octubre de 2010, los estudiantes previamente capacitados según lo indicado fueron enviados en subgrupos a las colonias objeto de estudio bajo la supervisión de uno de los investigadores para el levantamiento de los datos y la toma de muestras sanguíneas (previo consentimiento informado). Las muestras

ARTICULO ORIGINAL

fueron entregadas al laboratorio de la DACS de la UJAT en donde fueron procesadas de acuerdo a los procedimientos descritos en los párrafos precedentes.

Procesamiento y análisis de datos

La información fue sistematizada en una base de datos

empleando el software SPSS versión 11.0 para entorno Windows, con el que se realizó el análisis estadístico, consistente en medidas de frecuencia, de tendencia central y de dispersión. Asimismo se realizó la ubicación cartográfica de los casos positivos a IgM e IgG por medio del software SIGEpi versión 1.0 para entorno Windows con mapas regionales cargados para tal fin proporcionados por la

FIGURA 1. Geolocalización de casos positivos a IgG: Colonia Gaviotas Sur.



FIGURA 2. Geolocalización de casos positivos a IgG: Colonia La Manga 1ra. Secc.



Secretaría de Salud del Estado de Tabasco.

RESULTADOS

Descripción de la población

Se incluyeron 571 sujetos residentes en las colonias afectadas por las inundaciones, con una media de edad de 40.3 ± 17.2 años dentro de un intervalo de 20-83 años, siendo el 72.4% de sexo femenino y el 27.6% de sexo masculino.

Los sujetos incluidos, geográficamente, estuvieron distribuidos de la siguiente manera: 17.5% en La Manga 1ª Sección, 19.6% en La Manga 2ª Sección, 21.2% en La Manga 3ª Sección, 20.0% en Gaviotas Sur, y 21.7% en Gaviotas Norte.

Seroprevalencia

Entre los 571 sujetos examinados se encontraron 17 (2.9%) positivos a la presencia de anticuerpos de tipo IgG y 7 (1.2%) a IgM, de los cuales, 2 (0.3%) fueron positivos a ambos anticuerpos. En suma, 24 (4.2%) sujetos fueron positivos a

alguno de los anticuerpos analizados. Por otra parte, ningún sujeto resultó positivo a la prueba de búsqueda de antígenos para el denguevirus.

Geolocalización de los casos

Los 17 casos positivos a IgG estuvieron distribuidos de la siguiente manera: seis en Gaviotas Sur (35%), cuatro en La Manga 1ra Secc. (24%) y siete en La Manga 3ra Secc. (41%). Al ubicar cartográficamente los casos, se observó que éstos se ubicaron en:

- 1) Gaviotas Sur: Las Torres (3), Reynaldo Ruiz (1), Río Grijalva (1) y Río Puxcatan (1).
- 2) La Manga 1ra Secc.: Calle 1 (2) y Malecón (2).
- 3) La Manga 3ra Secc.: Laguna La Majagua (7)

Ubicaciones consistentes con la proximidad de los domicilios a los cuerpos de agua dulce de la zona [Figuras 1 a 3].

FIGURA 3. Geolocalización de casos positivos a IgG: Colonia La Manga 3ra. Secc.



Los siete casos positivos a IgM estuvieron distribuidos de la siguiente manera: cinco en Gaviotas Norte (71%) y dos en La Manga 3ra Secc. (29%). Al ubicar cartográficamente los casos, se observó que éstos se ubicaron en:

- 1) Gaviotas Norte: Pepe del Rivero (4) y Pedro Gutiérrez Cortés (1).
 - 2) La Manga 3ra Secc.: Laguna La Majagua (2)
- Ubicaciones consistentes con la proximidad de los domicilios a los cuerpos de agua dulce de la zona [Figuras 4 y 5].

FIGURA 6. Geolocalización de casos positivos a IgG e IgM: Colonia La Manga 3ra Secc.



DISCUSIÓN

El presente estudio, cuenta con una limitación que se debe comentar para que sus resultados sean considerados con objetividad. Los resultados obtenidos pertenecen a un pequeño conjunto de colonias del municipio de Centro, Tabasco, anualmente afectado por inundaciones, por lo que sus resultados no son proyectables hacia otras comunidades del municipio ni al propio municipio. Los resultados son útiles como punto de comparación contra resultados en comunidades que compartan características similares.

En esta serie, se observó una seroprevalencia de 4.1% para anticuerpos antidengue en población de zonas de riesgo de Centro, Tabasco, cifra superior a la reportada por Espinoza-Gómez y cols.,¹⁰ en su cohorte de Colima siete años antes, pero inferior a la reportada en universitarios de la misma localidad en diferente ubicación en dos años previos a la inundación que sufriera el Estado en el año 2007,⁸ y aún menor que la reportada en Jáltipan, Veracruz, entre los brotes epidemiológicos del 2002 y 2004.⁹ Considerando tales estadísticas por una parte, y por otra, las intensas lluvias y la consecuente suposición de una génesis exponencial de criaderos de mosquitos, la frecuencia relativa de casos nuevos de fiebre de dengue observada es menor a lo que era de esperarse dadas las circunstancias, lo que lleva a suponer efectos positivos de las intervenciones de la Secretaría de Salud para prevenir la enfermedad, que no obstante, es necesario reforzar en las zonas cercanas a cuerpos de agua dulce, dado que ahí es donde persisten los casos.

En este sentido, en el presente estudio se observó que los casos de fiebre de dengue en zonas de riesgo de anegación de Centro, Tabasco, se presentan en los domicilios próximos a cuerpos de agua dulce, lo que según la literatura consultada puede deberse a que el mosquito pone sus huevos en los sitios que acumulan agua,^{6,7,11,12} como lo podrían ser por ejemplo los remansos de agua dulce generados al término de las lluvias de Octubre que se suscitan en la entidad, que son ajenos a la cobertura del Programa "Patio Limpio" de la Secretaría de Salud, como lo son los hoyos de los árboles y los charcos. No obstante, tal conjetura deberá ser tomada en calidad de hipótesis y ser comprobada en futuros estudios.

CONCLUSIÓN

Atendiendo a tales observaciones, se puede concluir entonces, que la prevalencia de fiebre de dengue en las localidades fue menor a la esperada, lo que hace suponer efectos positivos de las intervenciones para prevenir la enfermedad, que es necesario reforzar en zonas cercanas a cuerpos de agua dulce, en tanto que la geolocalización de los casos positivos a denguevirus guardó correspondencia con la cercanía a tres cuerpos de agua: El Río Grijalva y Las Lagunas El Encanto y La Majagua.

Se requieren estudios más amplios, con inclusión de otras zonas de riesgo de anegación en Centro, Tabasco, preferentemente multicéntricos, para presentar mejores

conclusiones.

Se recomienda a la Secretaría de Salud del Estado de Tabasco el reforzamiento de sus acciones preventivas en las zonas cercanas a El Río Grijalva y las Lagunas El Encanto y La Majagua, en tanto que estas áreas parecen constituir centros potenciales de brote de fiebre de dengue en la localidad.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas sanitarias mundiales. Ginebra, Suiza: OPS/OMS, 2007.
2. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas sanitarias mundiales. Ginebra, Suiza: OPS/OMS, 2008.
3. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas sanitarias mundiales. Ginebra, Suiza: OPS/OMS, 2009.
4. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas sanitarias mundiales. Ginebra, Suiza: OPS/OMS, 2010.
5. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas sanitarias mundiales. Ginebra, Suiza: OPS/OMS, 2011.
6. Secretaría de Salud. Programa de acción específico 2007-2012. Dengue. Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. México; 2008.
7. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Infección por virus del dengue [monografía en internet]. CENAVE, México; 2008 [consultado 2010 julio]. Disponible en <http://www.cenave.gob.mx/etv/dengue.html>
8. Sánchez-Burgos GG, López-Alvarado MA, Castañeda-Desales D, Ruiz-Gómez J, Ramos-Castañeda J. Prevalencia de anticuerpos neutralizantes contra los serotipos del virus dengue en universitarios de Tabasco, México. *Salud Pública Méx.* 2008;50(5):362-6.
9. Navarrete-Espinosa J, Aceveo-Vales JA, Huerta-Hernández E, Torres-Barranca J, Gavaldón-Rosas DG. Prevalencia de anticuerpos contra dengue y leptospira en la población de Jáltipan, Veracruz. *Salud Pública Méx.* 2006;48(3):220-8.
10. Espinoza-Gómez F, Hernández-Suárez C, Rendón-Ramírez R, Carrillo-Álvarez ML, Flores-González JC. Transmisión interepidémica del dengue en la ciudad de Colima, México. *Salud Pública Méx.* 2003;45(5):365-70.
11. Organización Mundial de la Salud. Dengue. Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. La Paz, Bolivia: OPS/OMS, 2010.
12. Secretaría de Salud. Programa Nacional de vigilancia, prevención y control del dengue. Dengue y Dengue Hemorrágico. Guía Práctica para su diagnóstico, manejo y tratamiento. México; 2009
13. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. Enciclopedia de los Estados de México [monografía en Internet]. México: INAFED, 2011 [consultado, enero de 2012]. Disponible en http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/ELOC_Enciclopedia
14. Hernández-Martínez E, Mier y Terán-Suárez J, García-Hernández MF, Lázaro-Gil JE, Lladó-Verdejo AA. Panorama epidemiológico del dengue en Tabasco, México; año 2005. *Salud en Tabasco.* 2006;12(3):514-22.
15. Secretaría de Salud. Panorama epidemiológico de fiebre y fiebre hemorrágica de dengue en entidades federativas [base de datos en Internet]. México: DGEPI, 2011 [consultado, enero de 2012]. Disponible en http://www.dgepi.salud.gob.mx/denguepano/PANORAMAS_2011/
16. Daniels W. Bioestadística. Bases para el análisis de información en ciencias de la salud. 5a edición. México D.F., México: Limusa-Wiley, 2009.
17. Bhatnagar J, Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ, Lanciotti RS, Mafrin AA, et al. Detection of West Nile virus in formalin-fixed, paraffin-embedded human tissues by RT-PCR: a useful adjunct to conventional tissue-based diagnostic methods. *J Clin Virol.* 2007;38(2):106-11.
18. Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, Kamel HT, Norris PJ, Walsh I, et al. Virus and antibody dynamics in acute west nile virus infection. *J Infect Dis.* 2008;198(7):984-93.
19. Farfan-Ale JA, Llorroño-Pino MA, García Rejón JE, Hovav E, Powers AM, Lin M, et al. Detection of RNA from a novel West Nile-like virus and high prevalence of an insect-specific flavivirus in mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;80(1):85-95.
20. Huhtamo E, Hase E, Uzcátegui NY, Erra E, Nikkari S, Kantele A. Early diagnosis of dengue in travelers: comparison of a novel real-time RT-PCR, NS1 antigen detection and serology. *J Clin Virol.* 2010;47(1):49-53.