

# Chikungunya y Zika en América y México

## *Chikungunya and Zika in America and Mexico*

Elizabeth Ortega-Soto,\* Zaira E Arellano-Anaya,\* Blanca L Barrón\*

\* Laboratorio de Virología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Dirección para correspondencia:  
 Dra. Elizabeth Ortega-Soto  
 Prolongación de Carpio  
 y Plan de Ayala S/N,  
 Casco de Santo Tomás,  
 Del. Miguel Hidalgo, 11340,  
 Ciudad de México.  
 Tel: (52-55) 57296300, ext. 62377  
 E-mail: eortegas@ipn.mx

Recibido: 30 de marzo de 2016.  
 Aceptado: 23 de febrero de 2017.

Este artículo puede ser consultado en  
 versión completa en:  
<http://www.medigraphic.com/rid>

### Palabras clave:

Chikungunya, Zika, arbovirus,  
 microcefalia, Guillain-Barré.

### Key words:

Chikungunya, Zika, Arbovirosis,  
 Microcephaly, Guillain-Barré.

### Resumen

En años recientes varios países de América Latina, incluido México, se han visto afectados por brotes de los arbovirus de Chikungunya y Zika. Ambos virus, transmitidos por mosquitos del género *Aedes*, provocan cuadros febriles muy similares. La entrada de estos virus al continente americano, su rápida diseminación y la posible asociación de la infección por el virus de Zika con microcefalia y el síndrome de Guillain-Barré han causado preocupación a nivel global en los últimos meses. Aunque no se cuenta con una vacuna o tratamiento para estas infecciones virales, medidas sencillas como 1) evitar la picadura del mosquito transmisor y 2) disminuir su densidad poblacional, son elementos clave para el control de las arbovirosis. Por lo que es de suma importancia revisar los aspectos más relevantes de ambas infecciones.

### Abstract

Recently, several countries in Latin America, including Mexico, have been affected by outbreaks of Chikungunya and Zika viruses (arboviruses). Both viruses, transmitted by the bite of several species of mosquitoes of the *Aedes* genus, cause similar febrile illnesses. The entry of these virus to America, their rapidly spreading as well as the possible association between Zika infection with microcephaly and Guillain-Barre syndrome have caused global concern in the last few months. Despite that a vaccine or treatment against these viral infections is not yet available, simple practices as: 1) to avoid mosquito bites and 2) to control their population density are an important key to control arbovirosis. For that it is important to review the most relevant aspects of both infections.

## Introducción

En la actualidad, las infecciones virales constituyen uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Las enfermedades virales transmitidas por artrópodos (arbovirosis) representan un alto riesgo, especialmente en las regiones geográficas donde circulan sus vectores y se prevé que en años futuros este riesgo se incremente debido a su diseminación provocada por los fenómenos de globalización y cambio climático.<sup>1</sup> Entre los ejemplos de arbovirosis emergentes más recientes se encuentran los brotes causados por los virus de Chikungunya (CHIKV) y Zika (ZIKV) que afectan actualmente a América Latina, incluyendo

México. Ambos virus son transmitidos por diferentes especies de mosquitos del género *Aedes* entre las que se encuentran *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti*.

*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* se encuentran distribuidos en algunas regiones de América, excepto en Chile. En nuestro país los vectores están ampliamente distribuidos en regiones tanto rurales como urbanas. El mosquito transmisor de CHIKV y ZIKV es también el transmisor del virus del dengue (DENV) y del virus de la fiebre amarilla.<sup>2,3</sup>

El virus de Chikungunya se describió por primera vez en 1952 en África y Asia. Entre 1950 y 1980 provocó grandes brotes en la India e Italia, posteriormente reemergió en África occidental y se diseminó

por Asia en 2004.<sup>4</sup> En 2013 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) notificó el primer caso de CHIKV en la región de las Américas en la isla de Saint Martin. Posteriormente el virus se extendió por diferentes países de América Latina (Figura 1).<sup>5</sup> El primer caso de transmisión autóctona de CHIKV en México se registró en octubre de 2014. Desde entonces y hasta 2015 se notificaron 12,588 casos con cuatro defunciones. En 2016 (hasta el 26 de diciembre) se reportaron 755 casos nuevos de CHIKV en Baja California Sur y Veracruz principalmente.<sup>6</sup> Estos datos indican la transmisión activa del virus en nuestro país, así como su diseminación a lo largo del territorio nacional.

El virus de Zika fue aislado por primera vez de un mono Rhesus en Uganda en 1947.<sup>7</sup> En 2007 causó un brote en Micronesia y de ahí se diseminó a la Polinesia Francesa y a diferentes islas en Oceanía.<sup>4</sup> El ZIKV se reportó por primera vez en América en febrero de 2014 en la isla de Pascua en Chile y hasta mayo de 2015 se habló de los primeros casos de transmisión autóctona de ZIKV en Brasil; más tarde se detectaron casos en Colombia, El Salvador, Guatemala, Paraguay, Surinam y Venezuela (Figura 1). Se considera que el ZIKV pudo ser introducido a Brasil durante algún evento deportivo por turistas asiáticos, ya que los aislados virales de América Latina muestran mayor similitud con los aislados en Asia.<sup>8,9</sup> El primer caso de ZIKV en México se reportó en noviembre de 2015 en un paciente con re-

sidencia en Nuevo León, quien no tenía antecedentes de viaje a zonas donde circula el virus ni contacto con casos confirmados de ZIKV.<sup>10</sup> El primero de febrero de 2016, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró el brote de Zika como una «emergencia en salud pública de preocupación global» por la rápida diseminación del virus y sus posibles complicaciones autoinmunes como el síndrome de Guillain-Barré y congénitas que incluyen la microcefalia y problemas oculares en recién nacidos cuyas madres tuvieron signos de la infección durante la gestación. Desde la aparición del primer caso y hasta el 26 de diciembre de 2016 en México se han registrado un total de 7,427 casos, de los cuales 4,102 son mujeres embarazadas. En febrero del 2017 se reportó el primer caso de microcefalia asociada a Zika en México y hasta el 3 de abril, se tiene el reporte de 186 casos de Zika.<sup>11</sup> En México ya se cuenta con algunos aislados virales que han sido secuenciados y también guardan relación con el linaje asiático.<sup>12,13</sup>

El surgimiento y rápida diseminación de CHIKV y ZIKV se convirtió en un problema de salud pública que es imperativo atender, por lo que este manuscrito resume algunos datos conocidos hasta el momento sobre CHIKV y ZIKV, incluyendo su biología molecular, transmisión, cuadro clínico, tratamiento y prevención, subrayando la necesidad de establecer medidas sencillas de prevención de la infección y control de los vectores.

## Aspectos generales de las arbovirosis emergentes en México

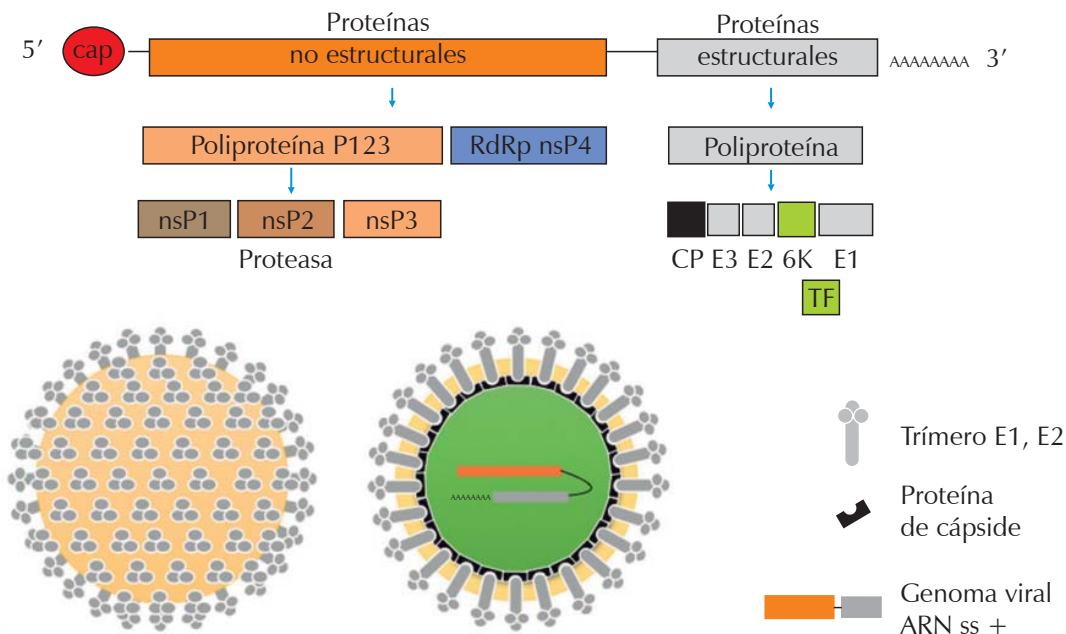
### Biología molecular del virus Chikungunya

El virus de Chikungunya pertenece a la familia *Togaviridae*, género *Alphavirus*. Estructuralmente es un virus envuelto de aproximadamente 65-70 nm de diámetro, la envoltura contiene 80 espículas que corresponden cada una a un trímero de las proteínas E1 y E2. Su cápside es icosaédrica y contiene un genoma de ARN de cadena sencilla de sentido positivo de entre 11 y 12 kb, el cual tiene CAP en el extremo 5' y una cola de poli-A en el extremo 3'.<sup>2</sup> El genoma contiene dos marcos de lectura abiertos (ORFs) que codifican cada uno para una poliproteína. La primera poliproteína se procesa en cuatro proteínas no estructurales (nsP1, nsP2, nsP3 y nsP4) y la segunda da origen a las cinco proteínas estructurales del virus (C, E3, E2, 6K, E1) (Figura 2).<sup>14</sup>

Los detalles sobre los eventos biosintéticos que intervienen en la replicación de CHIKV se descono-



**Figura 1.** Regiones en América con casos de Chikungunya y Zika. En el mapa se observan las regiones donde existe transmisión autóctona activa de CHIKV y ZIKV.



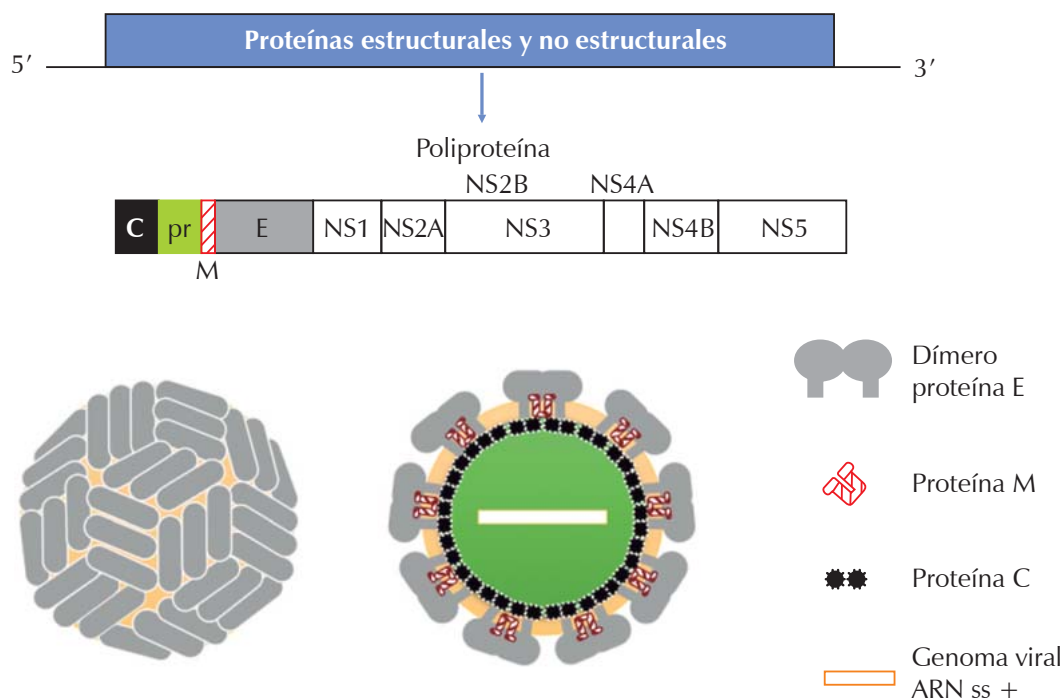
**Figura 2.** Genoma y estructura del virus Chikungunya. El genoma viral de CHIKV es un ARN de cadena sencilla sentido positivo que contiene dos marcos de lectura abiertos (ORFs); el primero codifica para una poliproteína que da origen a las proteínas no estructurales y el segundo a las estructurales. CHIKV es un virus envuelto cuya membrana contiene las glicoproteínas E1 y E2 formando espículas en trímeros en su superficie, la cápside es icosaédrica y está formada por la proteína denominada C.

cen; sin embargo, se han estudiado en otros alfavirus como el virus Sindbis. La replicación de estos virus es citoplásmica y la infección provoca la reorganización de las membranas intracelulares donde se replica el ARN viral. El ciclo de replicación comienza con la adsorción de las glicoproteínas E1 y E2 que permite la entrada del virus a la célula por endocitosis mediada por clatrina.<sup>15</sup> Una vez que el ARN viral se libera en el citoplasma, se traduce el primer ORF para producir una poliproteína que se procesa proteolíticamente por la proteína viral nsP2, dando lugar a las proteínas no estructurales. Las proteínas ns123 y nsP4 que forman un complejo que sintetiza algunas moléculas de ARN de cadena negativa sirven como molde para la síntesis del ARN genómico. El segundo ORF se expresa por la producción de un mARN subgenómico, el cual es mediado por un promotor interno en el intermediario de ARN(-). La producción del mARN subgenómico sólo se da cuando hay exceso de ARN genómico y su traducción da lugar a la formación de las proteínas estructurales.<sup>16</sup> Una vez que se obtienen las proteínas estructurales y la producción del genoma viral, el ensamblaje de la partícula viral se lleva a cabo en el retículo endoplásmico y la progenie viral sale de la célula por la vía secretora.<sup>15</sup>

### Biología molecular del virus de Zika

El virus de Zika pertenece a la familia *Flaviviridae* al igual que el DENV, es un virus envuelto de aproximadamente 50 nm de diámetro. El genoma viral es de ARN de cadena sencilla con polaridad positiva de aproximadamente 10 kb, éste tiene CAP en el extremo 5' y carece de cola de poli-A en el 3'.<sup>17</sup> El genoma de ZIKV también funciona como mARN y está flanqueado por dos regiones no traducidas; el ORF único se organiza de la siguiente forma: 5'-C-prM-E-NS1-NS2A-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3'. Después del corte proteolítico se producen la proteína de cápside (C), la precursora de membrana (prM) y la de envoltura, además de las no estructurales (NS1, NS2A, NS3, NS4A, NS4B y NS5) (Figura 3).<sup>18</sup>

El ciclo de replicación de ZIKV no se ha estudiado a fondo, pero se considera que puede ser similar a otros flavivirus como DENV. Aunque la replicación de ZIKV es citoplásmica, se asume que en células de insecto podría ocurrir en el núcleo. El ciclo de replicación inicia con la adsorción de virus<sup>17</sup> a la célula mediada por la glicoproteína E; los posibles receptores celulares son DC-SIGN, AXL, Tyro-3 y TIM-1. El virus entra por endocitosis fusionando su membrana con la de la



**Figura 3.** Genoma y estructura del virus Zika. El genoma viral de ZIKV es de ARN de cadena sencilla de sentido positivo. A diferencia de CHIKV, el virus de Zika tiene un marco de lectura abierto (ORF) único, el cual codifica para una poliproteína que da lugar a proteínas tanto estructurales como no estructurales después de un proceso proteolítico. ZIKV es un virus envuelto, en la membrana se encuentran dímeros de la proteína E, hacia el interior está presente la proteína M y la cápside icosaédrica está formada por la proteína denominada C.

célula a pH ácido. La replicación de ZIKV tiene lugar en vacuolas autofagocíticas.<sup>17</sup>

### Modo de transmisión de los arbovirus

Los arbovirus son virus transmitidos por artrópodos como mosquitos, garrapatas y otros insectos. CHIKV y ZIKV se transmiten por mosquitos del género *Aedes*. Estos virus poseen un complejo ciclo de transmisión que involucra a vertebrados como aves o mamíferos y vectores que se alimentan de su sangre.<sup>3</sup> Los mosquitos arbóreos comenzaron a adaptarse a los asentamientos humanos depositando sus huevecillos en agua contenida en vasijas y transmitieron el arbovirus a los humanos al alimentarse de éstos por picadura, propagando la transmisión al picar a otros individuos que fungían como reservorio, generándose así un ciclo de infección mosquito-humano-mosquito (Figura 4A). CHIKV circulaba en un ciclo selvático enzoótico cuyo reservorio natural eran primates no humanos y era transmitido por especies de *Aedes* diferentes a *aegypti* o *albopictus*.<sup>2,19</sup> Actualmente su ciclo de transmisión se mantiene básicamente en la población humana a

través de la picadura de *Ae. albopictus* principalmente, lo que indica una adaptación de CHIKV a diferentes vectores.<sup>19</sup> El virus de ZIKV circulaba principalmente en primates y mosquitos como *Ae. africanus* sin causar infecciones importantes en humanos,<sup>3</sup> pero en décadas recientes la circulación de ZIKV sigue la tendencia de CHIKV.<sup>4</sup>

Para que el mosquito sea capaz de transmitir la infección, los arbovirus deben llegar a las glándulas salivales y replicarse en ellas.<sup>15</sup> En el caso de CHIKV el virus es ingerido por el mosquito al alimentarse de la sangre del huésped virémico; el virus debe replicarse y diseminarse al homocelo para posteriormente infectar otros órganos como las glándulas salivales.<sup>20</sup> Los mosquitos permanecen infectados durante toda su vida<sup>2</sup> y puede haber transmisión transovárica, lo que propaga la infección en el vector.<sup>15</sup> En el caso de Zika se ha observado que ni *Ae. aegypti* ni *Ae. albopictus* son vectores eficientes en su transmisión, ya que pese a infectarse con facilidad, el virus no se disemina eficazmente en el mosquito, puesto que también hay diferencias en la eficacia de diseminación entre poblaciones de mosquitos de diversas regiones

geográficas. En el caso del brote actual se considera que la alta densidad<sup>21</sup> poblacional del mosquito asegura el éxito de la diseminación de ZIKV aumentando el número de mosquitos que pueden ser sensibles a la infección y transmitir el virus.<sup>21</sup>

Además de la transmisión por vectores, CHIKV es capaz de transmitirse por aerosoles. Asimismo, se considera que en general los alfavirus<sup>15</sup> pueden atravesar la barrera transplacentaria<sup>15</sup> con posibles manifestaciones clínicas en los neonatos (*Figura 4B*).<sup>22,23</sup>

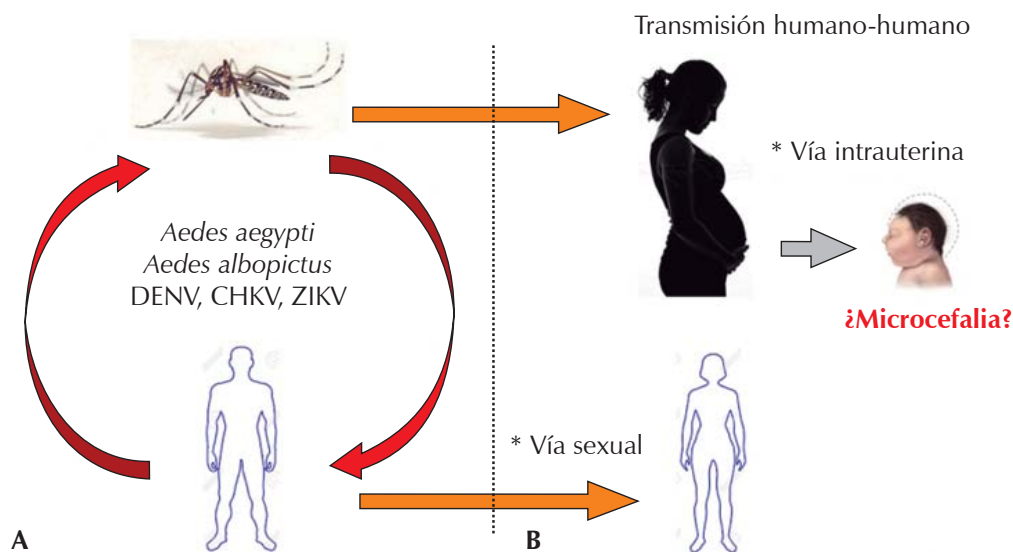
De igual manera, en el caso de ZIKV se ha sugerido la transmisión de persona a persona por otras vías: 1) transmisión sexual, 2) transfusiones sanguíneas y 3) intrauterina (*Figura 4B*).<sup>24</sup> Se ha detectado la presencia del virus en la sangre de los individuos infectados y en semen después de la infección de ZIKV<sup>25</sup> con variaciones en el tiempo de excreción, el cual es mayor en individuos con infección clínica.<sup>26</sup> Por otra parte se han reportado casos de infección por ZIKV en mujeres que no han vivido ni viajado a regiones donde circula el virus, pero que sí han tenido contacto sexual con su pareja, la cual cuenta con historial de viajes a regiones con transmisión de ZIKV.<sup>27,28</sup> La transmisión sexual se ha demostrado mediante análisis filogenético al observar sólo cuatro mutaciones entre los aislados obtenidos de una pareja.<sup>29</sup> La transmisión sexual po-

dría darse incluso antes de la aparición de síntomas en la pareja masculina.<sup>27</sup>

Una vez que CHIKV infecta al humano por la picadura del mosquito, el virus se replica en la piel y posteriormente se disemina al hígado, músculos, articulaciones, tejido linfoide y al cerebro.<sup>2</sup> Las células del tejido conectivo y células epiteliales constituyen el sitio inicial de replicación. Los monocitos, células blanco de la infección, diseminan el virus a otros tejidos habiendo una replicación secundaria en células endoteliales y fibroblastos de músculos y articulaciones donde el virus puede persistir.<sup>30</sup> En el caso de ZIKV éste es capaz de replicarse en células de la piel, tales como fibroblastos, células dermales, keratinocitos epiteliales y células dendríticas inmaduras.<sup>17</sup> Se desconocen mayores datos referentes al tropismo y patogénesis de esta infección.

### Cuadros clínicos producidos por Chikungunya y Zika

Los cuadros clínicos producidos por CHIKV y ZIKV son similares a los observados en DENV y malaria; además, comparten el mismo vector y por lo tanto la región endémica es similar. Estas enfermedades se caracterizan por fiebres, mialgia, dolor de cabeza,



**Figura 4.** Transmisión de los arbovirus. **A)** El mosquito transmite el virus al humano por picadura; el humano se convierte en fuente del virus y al ser picado por otro mosquito éste puede infectarse y transmitir el virus a otro humano, teniendo así un ciclo vector-humano-vector. **B)** La transmisión de humano a humano podría darse ya sea por vía intrauterina de la madre al feto cuando una mujer embarazada es infectada por la picadura del mosquito portador o por contacto sexual con una pareja masculina infectada y portadora del virus en el semen.



erupciones maculopapulares e incluso síntomas gastrointestinales.

Los síntomas que causa CHIKV incluyen fiebre elevada, rigores, dolor de cabeza, fotofobia y erupciones que pueden ser en forma de petequias o maculopapular. Un síntoma significativo es el dolor intenso en las articulaciones que incluso puede ser incapacitante. La fase aguda de la infección dura unos días; sin embargo, la artralgia puede persistir por varias semanas e incluso meses. Algunos pacientes pueden desarrollar artritis crónica.<sup>2</sup> Existen reportes de algunos casos de recién nacidos con manifestaciones severas por CHIKV como problemas respiratorios, sepsis, enterocolitis necrotizante, meningoencefalitis, miocarditis, edema, dermatitis y pericarditis.<sup>22</sup> En otro caso de un neonato con hiperpigmentación se demostró la presencia de anticuerpos IgM contra CHIKV.<sup>23</sup> Los datos anteriores muestran la posibilidad de que neonatos cuyas madres padecieron la infección por el virus presenten complicaciones, aunque otros reportes indican que no hay relación entre las complicaciones congénitas y la infección por CHIKV,<sup>31</sup> por lo que es necesario hacer investigaciones más amplias al respecto, sobre todo entre la etapa de gestación y el riesgo para el producto.

En el caso de ZIKV, 80% de las infecciones producidas son asintomáticas. El cuadro clínico de las infecciones producidas por ZIKV incluyen fiebre moderada, erupciones, dolor muscular en las articulaciones y conjuntivitis, rara vez produce la muerte;<sup>32</sup> sin embargo, la infección por ZIKV se ha asociado al síndrome de Guillian-Barré y a otros síndromes neurológicos relacionados con autoinmunidad.<sup>24</sup> Recientemente se demostró que en el brote de ZIKV en la Polinesia Francesa el número de casos de Guillian-Barré aumentó cerca de 6 veces y en 98% de los casos se detectaron anticuerpos IgG o IgM contra ZIKV,<sup>33</sup> lo que sugiere una relación entre la infección por ZIKV y Guillian-Barré. En Brasil se ha observado igualmente un aumento de aproximadamente cinco veces en el número de casos de Guillian-Barré desde 2015,<sup>34</sup> consistente con lo previamente descrito.

El síndrome de Guillian-Barré es una condición autoinmune en la que se atacan los nervios periféricos, lo que resulta en debilidad muscular en brazos y piernas u otras partes del cuerpo. En algunos casos puede haber parálisis de piernas, brazos o músculos de la cara. En 20% de las personas los músculos del pecho son afectados causando dificultad para respirar. Los casos graves del síndrome son raros, pero pueden resultar en parálisis total. La mayoría de las personas se recuperan incluso después de los casos severos de Guillian-Barré, empero pueden seguir experimentando debilidad.<sup>35</sup>

Recientemente se han relacionado casos de anomalías congénitas con la infección por ZIKV durante la gestación e incluso al momento del parto. El primer reporte de transmisión intrauterina se refiere a una mujer europea que trabajó en Natal, Brasil. Después de un cuadro febril que se diagnosticó como ZIKV, se detectaron calcificaciones en el cerebro del feto, microcefalia marcada y presencia de ZIKV en el tejido cerebral del mismo.<sup>36</sup> En otros estudios se ha confirmado la presencia del virus en tejido cerebral mediante RT-PCR en casos de abortos, microcefalia<sup>37</sup> e hidrocefalia.<sup>38</sup> El virus de ZIKV también se ha detectado en el líquido amniótico en mujeres embarazadas después de la manifestación clínica de la infección<sup>39,40</sup> y se ha demostrado que el virus se replica y persiste en cerebros de niños con microcefalia, así como en la placenta de las madres.<sup>41</sup> Estudios realizados en Brasil revelaron un mayor porcentaje de anomalías fetales en mujeres infectadas con ZIKV, en comparación con el grupo control.<sup>42,43</sup> En ratones el ZIKV infecta células madre neuronales en fetos causando restricción del crecimiento intrauterino y microcefalia.<sup>44-46</sup> Todo lo anterior pone de manifiesto la posibilidad de la transmisión intrauterina de ZIKV, así como las secuelas que el virus puede provocar en el feto, aunque no todos los casos de infección por ZIKV en mujeres embarazadas conllevan a problemas en el producto.

Por otro lado, en Brasil existen problemas en la definición y diagnóstico de microcefalia, lo que genera controversia. Por esta razón el comité de la *Society for Maternal Fetal Medicine* (SMFM) sugiere algunas consideraciones para el diagnóstico de la microcefalia: 1) la medida de la circunferencia de la cabeza (HC) debe estar por lo menos dos variaciones estándar (SD) debajo del promedio y 2) debe haber presencia de ventriculomegalia, hipoplasia cerebral y anomalías corticales. El diagnóstico positivo de microcefalia en fetos se dará cuando se observe reducción del HC de más de 3 SDs, considerando el promedio en la etapa gestacional en la que se encuentre el feto. El diagnóstico de microcefalia patológica puede darse cuando la reducción sea de más de 5 SDs.<sup>47</sup>

Aparte de Brasil en otros países hay evidencia de la relación de ZIKV y microcefalia. En Colombia se ha reportado un aumento de más de cuatro veces en el número de casos de microcefalia en 2016 en comparación con los observados en 2015<sup>48</sup> y en Estados Unidos se ha observado una mayor probabilidad de tener hijos con microcefalia cuando la madre ha cursado por una infección por ZIKV,<sup>49</sup> lo que sugiere una fuerte relación entre ZIKV y anomalías congénitas.

## Diagnóstico de las arbovirosis

El diagnóstico de las diferentes arbovirosis en México y América Latina es básicamente clínico con base en la sintomatología específica de cada infección. No obstante, esto puede llevar a un mal diagnóstico por la similitud de las diferentes infecciones producidas por DENV, CHIKV y ZIKV, entre otras.

Existen algunos «kits» de diagnóstico para DENV y CHIKV ya disponibles en el mercado basados tanto en la detección de componentes virales como en la respuesta inmunitaria contra dichos virus. Las técnicas de RT-PCR han sido muy útiles en el diagnóstico rápido de CHIKV, además de ser específicas para la infección, pero sólo en el periodo de viremia. De igual manera se han descrito algunos ensayos de ELISA e inmunofluorescencia para detectar anticuerpos, principalmente de tipo IgM.<sup>50</sup> Algunos factores que pueden afectar la serorreactividad son la posibilidad de falsos negativos por una crioglobulinemia inducida por CHIKV, la reactividad cruzada con virus del complejo Semliki Forest y la persistencia de anticuerpos de tipo IgG.<sup>2</sup> Debido a que ambas infecciones son similares, se han descrito algunos ensayos de RT-PCR dúplex que pueden diferenciar entre ambos virus. Algunas técnicas nuevas como la amplificación isotérmica de *loops* de transcripción con transcripción reversa (RT-LAMP) representan un método de diagnóstico que igualmente puede aplicarse en campo.<sup>50</sup>

Es posible recuperar el CHIKV de la sangre, suero, plasma o de algunos tejidos para llevar a cabo su aislamiento viral en mosquitos o cultivo celular. No obstante, el aislamiento no es una técnica de rutina, ya que se requiere de un laboratorio de nivel 3 de bioseguridad (BLS-3) para el cultivo del este virus, además de que demanda mucho tiempo para la obtención del resultado.<sup>50</sup>

En el caso de ZIKV, aún no existe ningún diagnóstico comercial para su detección. El diagnóstico por RT-PCR se efectúa por medio del Centro de Control de Enfermedades (CDC) y algunos departamentos de salud estatales o locales. La búsqueda de anticuerpos IgM específicos y de anticuerpos neutralizantes se realiza al final de la primera semana de la enfermedad. Un problema que surge en el caso de ZIKV es que las reacciones inmunológicas se cruzan con otros flavivirus, lo que complica el diagnóstico; la prueba de neutralización por reducción de placas puede ser útil para discriminar entre la reactividad cruzada.<sup>51</sup>

Contar con pruebas de diagnóstico rápido tanto para CHIKV como para ZIKV se ha vuelto una necesidad. Deben considerarse además otros arbovirus que cau-

san enfermedades febriles similares y que ya están circulando en América como DENV y Mayaro (MAYV) (otro alfavirus).<sup>52</sup> Un reto a corto plazo debe ser el diseño, evaluación y aplicación de pruebas diagnósticas que detecten DENV, CHIKV, ZIKV y MAYV en un solo tubo o biosensores que nos proporcionen un diagnóstico diferencial rápido, confiable y económico que se utilice en las regiones endémicas de arbovirus en nuestro país.

## Profilaxis y tratamiento de las arbovirosis

Hasta el momento no existe ninguna vacuna disponible para CHIKV ni para ZIKV, pese al esfuerzo de la comunidad científica en ese sentido. El desarrollo de una vacuna contra CHIKV inició en 1967 con algunos candidatos basados en partículas parecidas al virus (VLPs).<sup>30</sup> Otra alternativa son las partículas parecidas a la cápside o *core* (CLPs) a las que se les fusiona la proteína E2; la principal ventaja de las CLPs es que son más simples y estables que las CLPs y pueden ser inmunogénicas.<sup>53</sup>

Tampoco existe tratamiento específico disponible contra CHIKV o contra ZIKV. A los individuos afectados sólo se les brinda tratamiento de soporte que incluye descanso, ingesta abundante de líquidos y toma de medicamentos antipiréticos y analgésicos. Para evitar hemorragias debe evitarse la administración de aspirina hasta que se descarte el diagnóstico de DENV.<sup>3</sup> Algunas sustancias como la cloroquina o el arbidol han demostrado actividad antiviral contra CHIKV *in vitro*, pero no son efectivas en su uso clínico.<sup>30</sup> Asimismo, se ha demostrado actividad antiviral de más de veinte drogas ya aprobadas por la FDA, lo que podría representar una opción terapéutica de uso inmediato.<sup>12</sup> Algunas estrategias como la generación de ARNs de interferencia podrían ser de utilidad en el tratamiento de estas infecciones.

## Prevención y control de las arbovirosis presentes en México

Aparte de las vacunas otra forma de disminuir la transmisión de virus como CHIKV y ZIKV es el control del vector y la prevención de picaduras por el mismo, siendo por el momento las medidas que pueden ponerse en práctica para detener la transmisión de las arbovirosis. Por ello, las políticas en salud deben enfocarse en emitir comunicados para el control de la densidad de la población del mosquito transmisor, así como en evitar sus picaduras mediante la aplicación de acciones sencillas que la población en riesgo puede poner en marcha.

## Control de densidad de las poblaciones de mosquito

El control del mosquito es de vital importancia para disminuir la prevalencia de las arbovirosis. En áreas afectadas este control se lleva a cabo por 1) inspecciones regulares, 2) insecticidas (especialmente durante el brote), 3) educación a los residentes para eliminar constantemente recipientes con agua y 4) mantener áreas libres de objetos de desperdicio donde pueda estancarse el agua.<sup>54</sup>

El control del mosquito mediante el uso de insecticidas puede ser efectivo para disminuir el virus durante el brote; sin embargo, esto genera cepas resistentes, además de que muchos insecticidas son tóxicos para otras especies o para el medio ambiente. Por lo anterior se recomienda que las fumigaciones se lleven a cabo con carácter excepcional y con insecticidas adulticidas apropiados de acuerdo con la susceptibilidad de las poblaciones de mosquito presentes en cada lugar. La fumigación debe realizarse además con el equipo adecuado, con funcionamiento correcto y por personal capacitado para este fin.<sup>55</sup>

Los mosquitos se reproducen dejando sus huevecillos en cuerpos de agua, por lo que cacharros, cubetas, llantas y todo recipiente que pueda contener agua pueden ser un criadero de mosquitos. Se recomienda la eliminación de criaderos del vector en cada domicilio, así como en áreas comunes de los barrios como escuelas, cementerios, parques, etc. Si se requiere contener agua para consumo o limpieza, estos recipientes deberán estar cubiertos. Estas sencillas medidas que cualquiera puede aplicar pueden incluso ser más efectivas que el uso de insecticidas en el control del vector, sin la desventaja de generar toxicidad en la población humana o el ambiente.

*Ae. albopictus* habita en zonas tanto urbanas como rurales, mientras que *Ae. aegypti* se encuentra principalmente en áreas urbanas. Esto sugiere que son los hábitos de la comunidad los que mantienen ambas poblaciones, pudiendo sobrevivir incluso en temporadas de sequía. La pobreza y la escasa educación son igualmente factores importantes, siendo las comunidades pobres las más vulnerables y desprotegidas.<sup>19</sup>

Asimismo, el cambio climático es determinante en las poblaciones de mosquitos. Cambios ligeros en el clima pueden tener implicaciones significativas en la distribución de los mosquitos, así como en las enfermedades que transmiten. El Dengue, la malaria y otras enfermedades se han visto estrechamente relacionadas con el cambio climático; lo mismo ocurre con Chikungunya, que aumenta su prevalencia en el

mundo<sup>19</sup> y muy probablemente será el caso de Zika. La reducción de emisiones contaminantes sería de utilidad en el control de enfermedades en las que influye el cambio climático.

## Reducción de infecciones virales en el vector

La biología y la ingeniería genética pueden ayudar en el control de los vectores que transmiten a los arbovirus. Infectar a artrópodos transmisores de algunos arbovirus con la bacteria intracelular *Wolbachia* puede impedir la infección de insectos por algunos arbovirus. *Wolbachia* reduce la infección de virus de ARN, especialmente las familias *Flaviviridae*, *Togaviridae* y *Reoviridae*, pero no de ADN. Algunas teorías del mecanismo de protección contra la infección por estos virus incluyen: 1) la competencia de recursos entre el virus, el huésped y *Wolbachia*, 2) la estimulación del sistema inmunitario inducida por la bacteria, 3) aumento en especies reactivas del oxígeno y 4) la presencia de microARNs contra los virus.<sup>56</sup> La infección de los mosquitos con *Wolbachia* no siempre resulta en protección contra la infección viral, lo que representa un problema, habiendo casos en los que se detecta la misma carga viral de DENV o CHIKV que en mosquitos no infectados por la bacteria como es el caso de la infección por CHIKV en *Ae. albopictus*,<sup>57</sup> mientras que cuando infecta a *Ae. aegypti* sí se observa reducción de la carga viral y una protección contra la infección en mosquitos no expuestos previamente al virus.<sup>58</sup> Los resultados más alentadores se muestran en la infección natural, pero de igual manera se ha propuesto la infección artificial. El efecto antiviral de *Wolbachia* depende de la especie de mosquito, la cepa bacteriana y el estadio en el que el mosquito se infecta.<sup>56</sup>

El uso de mosquitos transgénicos puede igualmente ayudar en el control de las arbovirosis. Un ejemplo es la cepa OX513A de *Ae. aegypti* que contiene un transgén capaz de matar al mosquito que lo posee en su estado de larva; esta cepa ya ha sido liberada en Brasil para reducir la población de mosquitos. Una desventaja de este tipo de estrategias es que el resultado de la liberación predeterminada de mosquitos modificados aún no se ha estudiado; sin embargo, la Comisión Nacional Técnica de Bioseguridad de Brasil determinó que la cepa OX513A no presentaba nuevos riesgos biológicos para los humanos o el medio ambiente.<sup>59</sup> En general, la opinión pública se muestra en contra del uso de mosquitos genéticamente modificados para el control de las arbovirosis.<sup>60</sup>



## **Prevención de las picaduras por el vector**

Aun cuando sea posible disminuir la densidad poblacional del mosquito transmisor, evitar sus picaduras es una actividad sencilla que puede influir positivamente en el control de las arbovirosis. Se recomiendan repelentes que contengan N-N'dietil-3-metilbenzamida (DEET), IR3535 (3-[N-acetil-N-butil]-éster etil ácido aminopropionico) o icaridina (ácido-1 piperidine-carboxílico, 2-(2-hidroxi-etil)-1-metilpropilester, los cuales deben usarse después de aplicar cremas de protección solar, en caso de que se necesiten. Otra recomendación es el uso de ropa protectora como camisas o blusas de manga larga y pantalón para evitar picaduras en las extremidades, así como el uso de mosquiteros en puertas y ventanas para impedir la entrada del mosquito transmisor; en caso de no contar con mosquiteros, pueden usarse mallas, sábanas o cobijas que cubran la posible entrada del vector a las casas o sitios públicos de reunión.<sup>54,55</sup>

Una vez que se detecta un paciente infectado por CHIKV o ZIKV, debe evitarse su contacto con mosquitos para prevenir la transmisión a otras personas. El paciente debe descansar bajo mosquiteros que pueden incluso estar impregnados de insecticida. El paciente y las personas cercanas a él deben usar repelente de insectos y ropa que cubra las extremidades.<sup>55</sup>

En el caso de viajeros, se recomienda que las personas que se dirigen a regiones donde hay circulación de arbovirus extremen precauciones para evitar la picadura del mosquito transmisor. En caso de reconocer signos y síntomas de DENV, CHIKV o ZIKV se sugiere solicitar atención médica adecuada. Al regreso se aconseja estar atento ante la presencia de síntomas y acudir a un sistema de salud si es que éstos se presentan.<sup>55</sup> Estas acciones contribuyen a la disminución de riesgo de infección y diseminación de la enfermedad a regiones en las que no se ha presentado.

## **Medidas especiales para prevenir la transmisión de ZIKV por vía sexual o intrauterina**

En vista de que es probable la transmisión sexual de ZIKV, se recomienda a los pacientes masculinos que se han recuperado de la infección el uso de condón para evitar el posible contagio a su(s) pareja(s) sexual(es). En el caso de viajeros, se sugiere que la pareja masculina use condón por 28 días en caso de haber viajado a una región con transmisión activa de ZIKV, aun cuando no haya manifestado ningún

síntoma o por seis meses en caso de que haya manifestado síntomas o se le haya confirmado la presencia del virus y se encuentre en etapa de recuperación. Estas medidas son especialmente importantes si la pareja está en riesgo de quedar embarazada o está embarazada.<sup>54,61</sup>

Debido a que se considera el riesgo de transmisión intrauterina, las mujeres embarazadas que viven en zonas con transmisión activa de ZIKV deben tomar ciertas medidas especiales. En caso de mostrar síntomas consistentes con la infección, debe procederse a la detección del virus por RT-PCR. Debe tomarse en cuenta que la cantidad de virus disminuye a medida que la infección va resolviéndose, por lo que una prueba negativa no excluye la infección y debe llevarse a cabo el seguimiento serológico. Cuando todas las pruebas han sido negativas, puede continuarse con el cuidado normal y realizarse un ultrasonido entre la semana 18 y 20 de gestación para descartar cualquier anomalía, específicamente microcefalia y/o calcificaciones en el tejido cerebral. En caso de presentar anomalías se recomienda hacer una amniocentesis e iniciar la detección del virus en el líquido amniótico.<sup>61</sup> La SMFM sugiere hacer ultrasonidos cada tres o cuatro semanas de gestación en mujeres embarazadas que viven en zonas endémicas, aun cuando no hayan tenido signos de la infección.<sup>47</sup>

En el caso de mujeres en edad reproductiva, se considera tomar medidas para evitar embarazos no planeados utilizando los métodos de contracepción más recomendados por sus médicos. En caso de que la mujer desee un embarazo, deben extremarse medidas contra la picadura de los mosquitos.<sup>54,55</sup>

En el caso de viajeros, se sugiere a las mujeres embarazadas o que planean embarazarse próximamente eviten viajar a regiones donde se sabe existe la transmisión activa de ZIKV; en caso de que el viaje no pueda posponerse, se aconseja tomar medidas escrupulosas para prevenir la picadura del mosquito, especialmente en la mañana y en al atardecer, cuando el vector es más activo.<sup>54</sup> Otra sugerencia a las mujeres embarazadas que han viajado a regiones con transmisión activa de ZIKV es que se les realice una prueba serológica entre la 2ª y 12ª semana después del viaje, aun cuando no hayan mostrado signos ni síntomas relacionados con la infección. La detección de ZIKV incluye RT-PCR cuando se manifiestan los síntomas, así como la detección de IgM y la reducción de placas por anticuerpos neutralizantes, la cual se hace en especímenes colectados cuatro días después del inicio de los síntomas.<sup>61</sup> El seguimiento del desarrollo normal del feto mediante ultrasonidos seriales

es recomendable en el caso de viajeras sin signos clínicos evidentes de infección.<sup>62</sup>

En el caso de infantes afectados por la infección de ZIKV es importante llevar un seguimiento de sus posibles secuelas. En caso de haberse detectado anomalías como microcefalia o calcificaciones en el cerebro, ya sea antes o al momento de nacer, debe procederse a la detección del virus. Asimismo, es recomendable realizar una revisión médica del infante que incluye la detección de problemas auditivos u oculares, además de verificar un adecuado funcionamiento hepático. Debido a que aún no se demuestra la transmisión del virus a través de la leche materna, los infantes pueden ser alimentados por esta vía y continuar con el seguimiento de la infección viral hasta que el médico lo considere conveniente. Otra sugerencia es el uso de repelentes y ropa protectora para evitar la infección en infantes de menos de dos meses.<sup>62</sup>

## Conclusión

Las infecciones por CHIKV y ZIKV son un ejemplo reciente de la distribución que las infecciones virales están presentando a nivel mundial debido a la globalización, actividades humanas, cambio climático, entre otros factores, los cuales han facilitado que nuevos vectores de diferentes especies de artrópodos y reservorios participen en el ciclo del virus. Además la entrada de una nueva infección viral a una comunidad virgen puede ocasionar nuevos síndromes, por lo que es necesario que las autoridades de salud y la comunidad estén atentas para detectarlos y diagnosticarlos lo antes posible, de igual manera es esencial realizar estudios epidemiológicos, así como de patología y biología molecular de los virus circulantes. Virus como ZIK y CHIK no son los primeros ni los últimos en ampliar su circulación, ya que en la transmisión de diversos virus pueden participar otros vectores como los murciélagos y los reservorios pueden ser mamíferos, aves, etc, de ahí la importancia de lograr su control. La limpieza de contenedores de agua y el desecho adecuado de recipientes que puedan almacenarla reducen la densidad poblacional de mosquitos disminuyendo así la diseminación de virus como CHIKV y ZIKV. El uso de repelentes y ropa protectora para reducir el riesgo de picaduras contribuye a evitar la diseminación de los arbovirus. Estas acciones sencillas tienen la ventaja de ser efectivas en el control del mosquito y no representan riesgos para la población ni para el medio ambiente como el uso de insecticidas o mosquitos modificados

genéticamente. La educación de la población por el sector salud será de suma importancia para reducir la diseminación de estas arbovirosis en México y es indispensable la adopción de estas acciones a nivel global para un control adecuado en el mundo en ausencia de vacuna y/o tratamientos.

**Agradecimientos.** Agradecemos al Dr. Jesús Miguel Torres Flores por sus comentarios y sugerencias en la elaboración de este manuscrito.

## Bibliografía

1. Murphy FA, Nathanson N. The emergence of new virus diseases: an overview. *Seminars in Virology*. 1994; 5: 87-102.
2. Lo Presti A, Lai A, Cella E, Zehender G, Ciccozzi M. Chikungunya virus, clinics and phylogenesis: a review. *Asian Pac J of Trop Med*. 2014; 7 (12): 925-932.
3. Fauci AS, Morens DM. Zika Virus in the Americas-yet another arbovirus threat. *N Engl J Med*. 2016; 374 (7): 601-604.
4. Musso D, Cao-Lormeau VM, Gubler DJ. Zika virus: following the path of Dengue and Chikungunya? *Lancet*. 2015; 386: 243-244.
5. Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Situación epidemiológica de virus Chikungunya en América. Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/alertas/2014/chikungunya/Aviso\\_epidemiologico\\_CHILV\\_120614DGE\\_DGAE\\_INDRE.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/alertas/2014/chikungunya/Aviso_epidemiologico_CHILV_120614DGE_DGAE_INDRE.pdf)
6. Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Casos confirmados de fiebre Chikungunya. Semana epidemiológica 50 del 2016. Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2016/chik/DGE\\_CHIK\\_CASOSYDEF\\_SEM50\\_2016.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2016/chik/DGE_CHIK_CASOSYDEF_SEM50_2016.pdf)
7. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1952; 46: 509-520.
8. Díaz-Quiñonez JA, Escobar-Escamilla N, Ortíz-Alcántara J, Vázquez-Pichardo M, de la Luz Torres-Rodríguez M, Nuñez-León A et al. Identification of Asian genotype of chikungunya virus isolated in Mexico. *Virus Genes*. 2016; 52 (1): 127-129.
9. Salvador FS, Fujita DM. Entry routes for Zika virus in Brazil after 2014 world cup: New possibilities. *Travel Med Infect Dis*. 2016; 14 (1): 49-51.
10. Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Infección por virus Zika, síndrome neurológico y anomalías congénitas. Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2015/zika/Aviso\\_ZIKA\\_SX\\_NEUROLOGICO\\_101215.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2015/zika/Aviso_ZIKA_SX_NEUROLOGICO_101215.pdf)
11. Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. "Casos confirmados de Infección por virus Zika" Semana epidemiológica 50 del 2016. Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2016/zika/DGE\\_ZIKA\\_CASOS\\_SEM50\\_2016.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2016/zika/DGE_ZIKA_CASOS_SEM50_2016.pdf)

12. Barrows NJ, Campos RK, Powell ST, Prasanth KR, Schott-Lerner G, Soto-Acosta R et al. A screen of FDA-approved drugs for inhibitors of Zika virus infection. *Cell Host Microbe*. 2016; 20: 259-270.
13. Boukadida C, Torres-Flores JM, Yocupicio-Monroy M, Piten-Isidro E, Rivero-Arrieta AY et al. *Genome Announc*. 2017; 5: (12)e00072-17.
14. Khan AH, Morita K, Parquet MM, Hasebe F, Mathenge EG, Igarashi A. Complete nucleotide sequence of chikungunya virus and evidence for an internal polyadenylation site. *Gen Virol*. 2002; 83 (Pt 12): 3075-3084.
15. Griffin DE. Alphaviruses. In: *Fields Virology*, Knipe DM, Howley. 6 ed., Editorial. 2013, pp. 651-686.
16. Rupp JC, Sokoloski KJ, Gebhart N, Hardy RW. Alphavirus RNA synthesis and non-structural protein functions. *J Gen Virol*. 2015; 96: 2483-2500.
17. Hamel R, Dejarnac O, Wichit S, Ekcharyawat P, Neyret A, Luplertlop N et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells. *J Virol*. 2015; 89 (17): 8880-8896.
18. Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Arch Virol*. 2007; 152: 687-696.
19. Meason B, Paterson R. Chikungunya, climate change, and human rights. *Health Hum Rights*. 2014; 1 (16): 105-112.
20. Vega-Rúa A, Schmitt C, Bonne I, Krijnse LJ, Failloux AB. Chikungunya virus replication in salivary glands of *Aedes albopictus*. *Viruses*. 2015; 7 (11): 5902-5907.
21. Chouin-Carneiro T, Vega-Rua A, Vazeille M, Yebakima A, Girod R, Goindin D et al. Differential susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10 (3): e0004543.
22. Villamil-Gómez W, Alba-Silvera L, Menco-Ramos A, Gonzalez-Vergara A, Molinarez-Palacios T, Barrios-Corrales M et al. Congenital Chikungunya virus infection in sincelejo, Colombia: a case series. *J Trop Pediatr*. 2015; 61 (5): 386-392.
23. Vasani R, Kanhere S, Chaudhari K, Phadke V, Mukherjee P, Gupta S et al. Congenital Chikungunya-a cause of neonatal hyperpigmentation. *Pediatr Dermatol*. 2016; 33 (2): 209-212.
24. Petersen E, Wilson ME, Touch S, McCloskey B, Mwabae P, Bates M et al. Rapid spread of Zika virus in the Americas-implications for public health preparedness for mass gatherings at the 2016 Brazil Olympic Games. *Int J Infect Dis*. 2016; 44: 11-15.
25. Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21: 359-361.
26. Mansuy JM, Suberbielle E, Chapuy-Regaud S, Mengelle C, Bujan L et al. Zika virus in semen and spermatozoa. *Lancet Infect Dis*. 2016; 16: 1106-1107.
27. Foy BD, Kobylinski KC, Foy JLC, Blitvich BJ, Travassos Da Rosa A et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17: 880-882.
28. Hills SL, Russell K, Hennessey M, Williams C, Oster AM, Fisher M et al. Transmission of Zika virus through sexual contact with travelers to Areas of Ongoing Transmission-Continental United States, 2016. *MNWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65 (8): 215-216.
29. D'Ortenzio E, Matheron S, Yazdanpanah Y, de Lamballerie X, Hubert B. Evidence of sexual transmission of Zika virus. *N Engl J Med*. 2016; 374: 2195-2198.
30. Rougeron V, Sam IV, Caron M, Nkoghe D, Leroy E, Roques P. Chikungunya, a paradigm of neglected tropical disease that emerged to be a new health global risk. *J Clin Virol*. 2015; 64: 144-152.
31. Laoprasopwattana K, Suntharasaj T, Petmanee P, Suddeaugrai O, Geater A. Chikungunya and dengue virus infections during pregnancy: seroprevalence, seroincidence and maternal-fetal transmission, southern Thailand, 2009-2010. *Epidemiol Infect*. 2016; 144 (2): 381-388.
32. OMS. Enfermedad por Zika. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/es/>
33. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J et al. Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet*. 2016.
34. Araujo LM, Ferreira ML, Nascimento OJ. Guillain-Barre' syndrome associated with the Zika virus outbreak in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 2016; 74: 253-255.
35. WHO. Guillain-Barré syndrome. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/guillain-barre-syndrome/>
36. Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak Prijatelj M, Mraz J et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med*. 2016; 10: 951-958.
37. Martines RB, Bhatnagar J, Keating MK, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Gary J et al. Notes from the field: evidence of Zika virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal Losses-Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65 (6): 159-160.
38. Sarno M, Sacramento GA, Khouri R, do Rosário MS, Costa F, Archanjo G et al. Zika virus infection and stillbirths: a case of hydrops fetalis, hydranencephaly and fetal demise. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10 (2): e0004517.
39. Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2016; pii: S1473-3099(16)00095-5.
40. Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, Kuivanen S, Jääskeläinen AJ et al. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med*. 2016; 374: 2142-2151.
41. Bhatnagar J, Rabeneck DB, Martines RB, Reagan-Steiner S, Ermias Y et al. Zika Virus RNA replication and persistence in brain and placental tissue. *Emerg Infect Dis*. 2017; 23 (3): 405-414.
42. Brasil P, Pereira JP, Raja Gabaglia C, Damasceno L, Wakimoto M, Ribeiro Nogueira RM et al. Zika virus

- infection in pregnant women in Rio de Janeiro-Preliminary report. *N Engl J Med*. 2016; 375 (24): 2321-2334.
43. de Araújo TV, Rodrigues LC, de Alencar XR, de Barros MF, Montarroyos UR, de Melo AP et al. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. *Lancet Infect Dis*. 2016; 16: 1356-1363.
  44. Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JL, Guimarães KP et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*. 2016; 534: 267-271.
  45. Brault JB, Khou C, Basset J, Coquand L, Fraiser V, Frenkiel MP et al. Comparative analysis between flaviviruses reveals specific neural stem cell tropism for Zika virus in the mouse developing neocortex. *EBioMedicine*. 2016; 10: 71-76.
  46. Li C, Xu D, Ye Q, Hong S, Jiang Y, Liu X et al. Zika Virus disrupts neural progenitor development and leads to microcephaly in mice. *Cell Stem Cell*. 2016; 19: 120-126.
  47. SMFM Publications Committee, SMFM Statement: ultrasound screening for fetal microcephaly following zika virus exposure. *Am J Obst Gynecol*. 2016; pii: S0002-9378 (16): 00343-00344.
  48. Cuevas EL, Tong VT, Roza N, Valencia D, Pacheco O et al. Preliminary report of microcephaly potentially Associated with Zika virus infection during pregnancy-Colombia, January-November 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65 (49): 1409-1413.
  49. Kumar M, Ching L, Astern J, Lim E, Stokes AJ, Melish M et al. Prevalence of antibodies to Zika virus in mothers from Hawaii who delivered babies with and without Microcephaly between 2009-2012. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(12):e0005262.
  50. Markedian SK, Robert AL. Diagnostic options and challenges for Dengue and Chikungunya viruses. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 834371.
  51. CDC. Zika Virus. Diagnostic Testing. Disponible en: <http://www.cdc.gov/zika/hc-providers/diagnostic.html>
  52. Figueiredo ML, Figueiredo LT. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014; 47 (6): 677-683.
  53. Hikke MC, Geertsema C, Wu V, Metz SW, van Lent JW, Vlak JM, Pijlman GP. Alphavirus capsid proteins self-assemble into core-like particles in insect cells: A promising platform for nanoparticle vaccine development. *Biotechnol J*. 2016; 11: 266-273.
  54. Public Health England. Zika Virus. Disponible en: <https://www.gov.uk/guidance/zika-virus>
  55. OPS. Alerta Epidemiológica. Síndrome neurológico, anomalías congénitas e infección por virus Zika. Implicaciones para la salud pública en las Américas. 1 de diciembre de 2015. Disponible en: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/avisos/2015/zika/ops/alerta-epi-virus-zika-20151201.pdf>
  56. Johnson KN. The impact of Wolbachia on virus infection in Mosquitoes. *Viruses*. 2015; 7 (11): 5705-5717.
  57. Ahmad NA, Vythilingam I, Lim YA, Zabari NZ, Lee HL. Detection of Wolbachia in *Aedes albopictus* and Their Effects on Chikungunya virus. *Am J Trop Med Hyg*. 2017; 96 (1): 148-156.
  58. Aliota MT, Walker EC, Uribe Yepes A, Velez ID, Christensen BM, Osorio JE. The wMel strain of Wolbachia reduces transmission of Chikungunya virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10 (4): e0004677.
  59. Paes de Andrade P, Aragão FJ, Colli W, Dellagostin OA, Finardi-Filho F, Hiroyuki HM et al. Use of transgenic *Aedes aegypti* in Brazil: risk perception and assessment. *Bull World Health Organ*. 2016; 94 (10): 766-771.
  60. Adalja A, Sell TK, McGinty M, Boddie C. Genetically Modified (GM) Mosquito Use to Reduce Mosquito-Transmitted Disease in the US: A Community Opinion Survey. *PLoS Curr*. 2016; 8.
  61. Oduyebo T, Petersen EE, Rasmussen SA, Mead PS, Meaney-Delman D, Renquist CM et al. Update: interim guidelines for health care providers caring for pregnant women and women of reproductive age with possible Zika virus exposure. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65 (5): 122-127.
  62. Fleming-Dutra KE, Nelson JM, Fisher M, Staples JE, Karwowski MP, Mead P et al. Update: Interim Guidelines for Health Care Providers Caring for Infants and Children with Possible Zika Virus Infection- United States, February 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65 (7): 182-187.