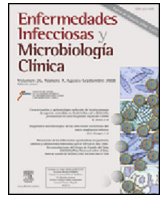




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Formación médica continuada: Salud internacional y atención al viajero

Infecciones víricas emergentes y por virus hepatotropos



Marta Arsuaga^{a,*}, Fernando de la Calle-Prieto^a, Ana Negrodo Antón^b y Ana Vázquez González^b

^a Unidad de Medicina Tropical y Consulta del Viajero. Centro de Referencia Nacional de Enfermedades Tropicales. Servicio de Medicina Interna. Hospital La Paz-Carlos III, Madrid, España

^b Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Víricas Importadas, Centro Nacional de Microbiología, ISCIII, Majadahonda, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 1 de abril de 2016

Aceptado el 1 de abril de 2016

On-line el 5 de mayo de 2016

Palabras clave:

Virus emergente

Vacuna

Prevención

R E S U M E N

La degradación del medio ambiente, los movimientos poblacionales y las aglomeraciones en áreas urbanas han conllevado el aumento del área de distribución de los vectores transmisores, derribando las fronteras para las patologías infecciosas. Esto, sumado a la falta de inmunidad previa de las poblaciones, significa un riesgo de diseminación de la enfermedad. Por otro lado, el descenso en las tasas de vacunación en los países con recursos y las dificultades socioeconómicas en extensos territorios hacen que enfermedades que se encontraban en vías de erradicación hayan reemergido. Por tanto, es importante la formación de los equipos sanitarios para evitar retrasar el diagnóstico y agilizar la implantación de las medidas de control para la salud pública. Gran parte de la educación y de la prevención sanitaria debe recaer en los viajeros que por diversos motivos se mueven entre las diferentes regiones del planeta.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Emerging viral infections and hepatotropic virus

A B S T R A C T

Environmental degradation, population movements and urban agglomerations have broken down the borders for infectious diseases. The expansion of microorganisms has entered an increasing area of transmission vectors. The lack of immunity of the population leads to an increased risk of spreading infectious diseases. Furthermore, the decline in vaccination rates in developed countries and socio-economic difficulties in large regions has meant that diseases in the process of eradication have re-emerged. That is why health care workers must be trained to avoid delaying in diagnosis and to accelerate the implementation of public health measures. A great deal of education and health prevention should fall under the responsibilities of travellers who move around different regions.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Enfermedad por virus ebola

Aspectos microbiológicos

El virus ebola (EBOV) es un filovirus pleomórfico con envuelta y ARN de polaridad negativa. Existen 5 subtipos de EBOV: Zaire, Sudán, Reston, Tai Forest y Bundibugyo.

Epidemiología y distribución geográfica

El EBOV fue aislado por primera vez en 1976 en la República Democrática de Congo y Sudán. También han ocurrido brotes epidémicos en Gabón, República del Congo y Uganda. La última epidemia en África occidental ha sucedido en países que previamente no habían notificado casos, ha involucrado áreas urbanas, ha alcanzado cifras sin precedentes y por primera vez se han producido casos autóctonos fuera de África. Todo ello ha agilizado el empleo de terapias experimentales y vacunas.

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: marta.arsuaga@salud.madrid.org (M. Arsuaga).

Formas de transmisión y reservorios

Hallazgos científicos apuntan a los murciélagos frugívoros como posibles reservorios.

Entre los seres humanos se transmite por contacto directo con fluidos orgánicos procedentes de pacientes sintomáticos¹. Se ha cultivado EBOV a partir de saliva, leche materna, orina, humor acuoso y semen de pacientes infectados. Se ha detectado PCR viral en heces, lágrimas, sudor, orina, líquido cefalorraquídeo y exudados rectales, conjuntivales, respiratorios y vaginales. La transmisión a través de fómites también sería posible, y ha quedado demostrado el contagio vía sexual². Se ha detectado EBOV en placenta, líquido amniótico y leche materna. La transmisión por vía aérea parece poco probable, pero las intervenciones clínicas que generan aerosoles podrían ser una vía de contagio nosocomial¹.

Patogenia. Daño celular y respuesta inmune

La replicación comienza en macrófagos y células dendríticas, liberándose al espacio extracelular nuevos virus que invaden ganglios linfáticos y bazo, con expansión a múltiples tejidos y desencadenándose una gran respuesta sistémica inflamatoria.

Clínica y evolución de la enfermedad

El período de incubación (PI) es de 2-21 días. Aunque las formas clínicas son diversas, se pueden distinguir 4 fases³.

1. Una primera fase febril con síntomas generales inespecíficos.
2. Segunda fase, desde el día 3 al 10, con predominio de síntomas gastrointestinales, odinofagia marcada, exantema, artralgias, hipo y cuadro confusional.
3. Tercera fase, entre los días 7 y 12, fase crítica con desenlace hacia el shock o hacia la recuperación.
4. Cuarta fase de complicaciones tardías como eventos hemorrágicos o infecciones secundarias.

Se ha descrito una fase de convalecencia con síntomas como anorexia, artralgias, mialgias, lumbalgia, uveítis, meningoencefalitis e hipotiroidismo autoinmune⁴.

Complicaciones y pronóstico

En África el fallecimiento se produce entre los días 7 y 10 de enfermedad, principalmente por shock y/o encefalopatía. A mayor edad y mayor carga viral, mayor índice de decesos⁵. La mortalidad entre los pacientes atendidos en Europa y Estados Unidos es del 18,5%, mientras que en África occidental es del 43-74%, lo cual refleja que el acceso a terapias intensivas conlleva mejor pronóstico.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de EBOV se realiza mediante PCR en sangre; las pruebas serológicas no son rentables ya que la respuesta inmunológica puede estar ausente o retrasada en pacientes graves⁶. Para asegurar una viremia suficiente es necesario al menos 2 determinaciones de PCR separadas 72 h durante los primeros días de sintomatología⁵. Un resultado positivo de RT-PCR debe ser confirmado bien por secuenciación del fragmento genómico amplificado o aplicando un segundo método que detecte otra zona del genoma. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha autorizado en situaciones de emergencia el empleo de un método comercial de inmunocromatografía para la detección de las especies Zaire, Sudan y Bundibugyo. EBOV se clasifica como nivel 4 de riesgo biológico; por tanto, requiere un laboratorio de

bioseguridad 3 (BSL-3) y cabinas de seguridad biológica II o cabinas de seguridad clase III en un BSL-2 para inactivar el virus.

Diagnóstico diferencial

Los principales diagnósticos diferenciales se harían con el paludismo, la fiebre de Marburg, la fiebre de Lassa y la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo.

Tratamiento

El punto clave es el soporte con la hidratación del paciente y la reposición electrolítica.

Durante la actual epidemia se han utilizado diferentes tratamientos que precisan ampliar sus estudios para verificar la eficacia. Se ha empleado inmunoterapia como el suero de convaleciente o el Zmapp (compuesto por 3 anticuerpos [Ac] monoclonales humanizados). El estudio PREVAILII ha objetivado una mortalidad del 37,1% en el grupo control y del 22,2% en el brazo de Zmapp⁷.

Antivirales como el favipiravir han demostrado eficacia *in vitro* y en modelo murino. El ensayo clínico JIKI sugiere que favipiravir podría ser eficaz en pacientes con carga viral baja de EBOV, aunque el diseño del estudio no permite conclusiones definitivas⁸. Otros fármacos utilizados, como brincidofovir, Tekmira, JK05 y BCX 4430, han sido retirados. Otros fármacos en investigación son la amodiaquina, el interferón y toremifeno.

Prevención

Es fundamental el manejo de enfermos en unidades de aislamiento de alto nivel de contención y los equipos de protección individual homologados para el personal sanitario que atiende a estos pacientes.

Esta epidemia ha impulsado la investigación de vacunas.

Una vacuna quimérica con virus de la estomatitis porcina (VSV) y un antígeno de la especie Zaire de EBOV (VSV-ZEBOV) se ha ensayado mediante vacunación en diana en Guinea con resultados de protección del 100%; otra vacuna que emplea adenovirus tipo 3 (Ad3-ZEBOV) ha inducido inmunidad en voluntarios sanos y existen actualmente ensayos clínicos en África.

Otra vacuna polivalente (virus Marburg, ZEBOV y Sudan-EBOV) que emplea VSV protegía frente a los 3 virus a primates no humanos tras una única dosis⁹.

En cuanto al viajero, no habría restricciones específicas salvo a grupos de población (cooperantes, por ejemplo) que pudieran acudir a focos con brote activo.

Encefalitis víricas: West Nile, encefalitis transmitidas por garrapata y encefalitis japonesa

Aspectos microbiológicos

Son virus de la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*.

Epidemiología y distribución geográfica

El virus West Nile (WNV) fue descubierto en 1937 en Uganda, el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (TBEV) en 1931 en Austria y el virus de la encefalitis japonesa (EJV) en 1871 en Japón. Son zoonosis: los 3 casos con reservorio en aves, EJV en cerdos, WNV en caballos, y TBEV en pequeños mamíferos¹⁰.

Desde la llegada del WNV en 1999 a Nueva York, causa un gran número de encefalitis en humanos en Estados Unidos. En 2015 se comunicaron 2.060 casos, de los cuales el 66% presentaron una forma neuroinvasiva. Desde 2004 se han detectado Ac frente al virus en aves en España, y en 2010 se produce el primer brote en caballos

de la provincia de Cádiz y los 2 primeros casos de enfermedad neuroinvasiva en humanos. Actualmente circula en países de la cuenca mediterránea, Austria, Rumanía y Bulgaria.

Los TBEV se distribuyen por los bosques de Europa Central hasta alcanzar Japón. Se diferencian 3 subtipos: oriental (Rusia), siberiano y Europa Central (ECE). En el año 2012 se registraron 2.560 casos en Europa, registrándose una disminución de la incidencia gracias a la administración de la vacuna¹¹. Los países con más transmisión son Austria, Croacia, República Checa, Hungría, Eslovenia y Eslovaquia.

El EJV se distribuye por 24 países asiáticos, con 68.000 casos y 13.600-20.400 muertes anuales. Durante 2015 se declararon importantes brotes en el norte de India (1.700 casos de encefalitis con 400 muertes), Taiwán y Filipinas.

Formas de transmisión y reservorios

No se transmiten por el contacto o la ingesta de pájaros enfermos. El WNV y el EJV son transmitidos en la mayoría de los casos por la picadura de mosquitos *Culex*. Se ha documentado transmisión de WNV por hemoderivados, vía vertical, durante el parto, la lactancia, el trasplante de órganos o la exposición accidental en laboratorio. El TBEV se transmite por la picadura de garrapata de género *Ixodes* (*I. persulcatus* e *I. ricinus*), con un riesgo de infección tras la picadura en torno al 1%, y se han descrito casos asociados a la ingesta de leche no pasteurizada¹¹.

Clínica y evolución de la enfermedad

El PI del WNV es de entre 2 y 14 días. El 70-80% de las infecciones cursan de forma asintomática. En torno al 19% padecen un síndrome febril con debilidad, rash, vómitos, náuseas, artralgias y mialgias que puede durar de semanas a meses. Menos del 1% pueden cursar con meningitis o encefalitis, con especial incidencia en mayores de 60 años o personas con otras comorbilidades, registrándose en estos casos una mortalidad del 10%.

El PI del EJV es de 5-15 días, y la mayoría de las infecciones son asintomáticas. La forma más frecuente de presentación es como encefalitis aguda, con una clínica muy variada: algunos pacientes comienzan con un cuadro de psicosis que dificulta el diagnóstico¹², convulsiones (especialmente en niños) o hiponatremia por un síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).

La encefalitis transmitida por garrapata (TBE) tiene un PI de entre 2 y 28. Un 60% de los pacientes recuerdan antecedentes de picadura de garrapata. La clínica se divide en 2 fases: una fase virémica, que cursa con fiebre, malestar general, astenia, cefalea y artralgias, y una segunda fase con manifestaciones neurológicas¹¹. El 10% de los pacientes con clínica pueden desarrollar una encefalitis. La mortalidad es más elevada en población de edad avanzada y pacientes con comorbilidades.

Diagnóstico

Las muestras de elección en la fase aguda son suero, plasma, orina y LCR. El suero y el LCR deben obtenerse simultáneamente para poder estudiar la producción intratecal de Ac. La serología es la herramienta de elección debido a las bajas viremias. Entre las técnicas disponibles (IFI, ELISA, inmunocromatografía), ELISA es la técnica más utilizada, al ser rápida, reproducible y más económica¹³. El ELISA de IgM es detectable durante 1-2 meses, aunque se ha documentado IgM frente a WNV durante más de un año. La detección de IgM en LCR confirma la infección. Los Ac IgG aparecen a los 8-10 días del inicio de los síntomas. En la interpretación de los resultados serológicos ha de considerarse el alto grado de reacción cruzada entre diferentes flavivirus, los antecedentes de vacunación frente a los mismos y su co-circulación en grandes áreas. En estas situaciones son especialmente útiles los ensayos de

avidez de IgG. El diagnóstico confirmatorio es el ensayo de neutralización, donde la obtención de diferencias significativas (4 veces) entre sueros obtenidos en la fase aguda y en la fase de convalecencia confirma el diagnóstico. El aislamiento viral en laboratorios BSL-3 sería el *gold standard*, aunque raramente se usa debido a la baja sensibilidad.

La PCR es rápida, específica y sensible, y existen diferentes tipos, tanto genéricas como específicas, para cada uno de estos virus¹⁴. Se han desarrollado nuevos métodos de detección mediante TMA, NASBA, RT-LAMP y PCR digital, sobre todo para WNV¹³.

Tratamiento

No existe tratamiento específico para ninguna. Los objetivos son mantener una presión intracraneal normal, una perfusión cerebral adecuada y prevenir complicaciones¹⁵.

La ribavirina y la pentoxifilina, con actividad frente a virus ARN, se han utilizado en ensayos *in vitro* e *in vivo*, pero sin eficacia demostrada¹⁶. Otros fármacos aún sin datos de eficacia son el interferón alfa y la 6-azauridina¹⁷.

Prevención

Se pueden emplear insecticidas y larvicidas organofosforados para el control del vector y repelentes de insectos con dietiltoulamida (DEET) y las piretrinas, sustancias vegetales naturales, cuya versión sintética es la permetrina. Tanto el enfermo en fase virémica como los trabajadores sanitarios que asistan a estos pacientes deben evitar las picaduras en las regiones donde circulen los vectores¹⁸. Para prevenir la TBE también se evitará el consumo de leche no pasteurizada¹⁵.

Se dispone de vacuna contra la encefalitis japonesa (EJ) y la TBE, ambas de virus atenuados y con la alternativa de una pauta rápida. En la vacunación frente a la EJ se administran 2 dosis separadas 28 días, con un refuerzo a los 2 años si persiste la exposición. La vacuna de TBE se administra en 3 dosis, con la segunda dosis a los 1-3 meses desde la primera y la tercera 5-12 meses después de la segunda. Si la exposición persiste, se recomienda refuerzo cada 3-5 años. La incidencia entre los no vacunados es de 6 por 100.000¹⁵.

Existe una vacuna de uso veterinario para el WNV, aún no aprobada en humanos.

Hepatitis A y hepatitis E

Aspectos microbiológicos

El virus de la hepatitis A (VHA) es de la familia *Picornaviridae*, género *Heparnavirus*, y el virus de la hepatitis E (VHE) es de la familia *Hepeviridae*, género *Hepevirus*. Ambos virus contienen una única cadena de ARN de polaridad positiva del grupo IV.

Epidemiología y distribución geográfica

Estas hepatitis suelen cursar en brotes epidémicos.

En 1947 se identificó el VHA. Tiene una amplia distribución mundial, siendo más prevalente en países sin recursos donde las condiciones higienicosanitarias son deficitarias. En los países de renta alta la hepatitis A registra más casos que la hepatitis E. Durante los últimos años se ha incrementado el número de casos notificados en países como Canadá y Líbano. Y en 2015 se han declarado brotes en Australia y Nueva Zelanda asociados a bayas congeladas importadas de China.

El VHE fue descubierto en 1983 en un brote en India. De distribución mundial, es más frecuente en Asia, Oriente Medio, África y Centroamérica. Es la primera causa de hepatitis aguda en adultos

en Centroamérica y Sudeste asiático y la segunda causa de hepatitis esporádica en Oriente Medio y en el Norte de África¹⁹. Los brotes más extensos han tenido lugar en la región china de Xinjiang (100.000 infectados entre 1986-1988), Uganda, Chad, Sudán del Sur y Darfur en Sudán. Un estudio reciente sobre coinfección de VIH y VHE en España ha arrojado una prevalencia de 7,2 por cada 100 pacientes.

Formas de transmisión y reservorios

La principal forma de transmisión es la vía fecal-oral, claramente relacionada con la escasez de agua convenientemente potabilizada, un saneamiento deficiente y una pobre higiene personal. Los convivientes con enfermos de hepatitis A tienen mayor riesgo de contagio. Así mismo, las relaciones sexuales anales, los niños, los trabajadores de guarderías, los trabajadores con discapacitados y los usuarios de vía parenteral.

No ha quedado demostrada la vía vertical para el VHA. En cambio, el VHE sí se puede transmitir de esta forma, produciendo un aumento de la morbimortalidad en los recién nacidos²⁰. Otras vías para el VHE son a través de hemoderivados, y un pequeño porcentaje en el contacto directo con convivientes infectados (1-2%)²¹.

Patogenia. Daño celular y respuesta inmune

Habitualmente la biopsia hepática muestra áreas de necrosis focales, hepatocitos balonizados y degeneración acidófila de los hepatocitos. En casos de hepatitis fulminantes puede hallarse una necrosis masiva²².

Clínica y evolución de la enfermedad

El PI para el VHA es habitualmente de entre 15 y 49 días. Para el VHE es de entre 2 y 10 semanas, y lo más habitual entre las 4 y 5 semanas. El cuadro clínico típico de ambos es la hepatitis aguda. En los niños puede cursar de forma silente, mientras que en los adultos puede variar desde un síndrome pseudogripal hasta una hepatitis fulminante. Las formas graves son más prevalentes en pacientes con patología hepática previa, especialmente hepatitis C.

La clínica comienza con astenia, malestar general, anorexia, fiebre, náuseas, vómitos y dolor en hipocondrio derecho. A los 7 días aparece coluria, ictericia y prurito. Otras manifestaciones pueden ser neuritis óptica, anemia aplásica y neuritis transversa.

Puede objetivarse hepatomegalia e ictericia²³, y con menos frecuencia esplenomegalia, adenopatías, rash, artritis y/o vasculitis. En los datos de laboratorio encontramos una elevación de transaminasas superior a 1.000 (mayor de la ALT que de la AST), de bilirrubina total, de fosfatasa alcalina y de reactantes de fase aguda²³.

El pronóstico de ambas es favorable. En un 60% pueden evolucionar hacia colestasis prolongada²¹, y además la hepatitis E, hacia la cronicación en inmunodeprimidos. La hepatitis fulminante por VHE, más frecuente en el embarazo, presenta una mortalidad del 15-25%²⁴.

Diagnóstico

El diagnóstico de la hepatitis A aguda se realiza por detección de Ac IgM específicos. Las técnicas de amplificación genómica detectan el virus en sangre y son más rentables en heces.

En la hepatitis E se basa en el uso conjunto o secuencial de la detección de IgM específica (generalmente mediante EIA) y la amplificación genómica en suero y/o heces, si bien la oferta comercial de métodos de amplificación genómica para el VHE es limitada. La detección de IgM específica puede dar resultados falsos positivos en infecciones agudas por citomegalovirus o por virus de Epstein-Barr. En nuestro medio se debe identificar el genotipo

del virus responsable para discriminar los casos autóctonos de los importados²⁵.

Tratamiento

El tratamiento es sintomático. En algunos pacientes con VHE que presentan inmunodepresión se ha utilizado la ribavirina²⁶. En algunos estudios se ha objetivado aclaramiento de la viremia en hepatitis E crónicas al administrar interferón pegilado.

Prevención

La higiene de manos es la medida más eficaz y barata. En viajeros a países con prevalencia de VHA y/o VHE se recomienda consumir alimentos bien cocinados y agua embotellada.

Se dispone de una vacuna inactivada para el VHA que, con 2 dosis, alcanza una protección próxima al 100%. Los sujetos en contacto con enfermos de VHA recibirán vacunación, o inmunoglobulina (Ig) si son población susceptible²⁷. Para la hepatitis E no se dispone de vacuna.

Poliomielitis y sarampión

Aspectos microbiológicos

El poliovirus (PV) es un enterovirus (EV) del grupo C de la familia *Picornaviridae*, sin envuelta y con una cadena de ARN de polaridad positiva; se diferencian 3 serotipos (1, 2 y 3). El sarampión pertenece a la familia *Paramixoviridae*, género *morbillivirus*, y contiene una cadena de ARN de polaridad negativa²⁸⁻³⁰.

Epidemiología y distribución geográfica

La poliomyelitis aparece en documentos egipcios datados en los años 1543-1292 a.C. La vacuna, aprobada a principios de los setenta, supuso un descenso drástico de casos^{28,29}. En 1999 se consigue la desaparición del PV salvaje (WPV) serotipo 2^{29,31}. En 2014 se notificaron 359 casos repartidos por 9 países: el 85% de ellos en Pakistán y el resto en Guinea Ecuatorial, Camerún, Etiopía, Somalia, Nigeria, Siria, Iraq y Afganistán. En 2014 India y el Sudeste asiático, y en 2015 Nigeria, fueron declarados libre de poliomyelitis. Todos los casos actuales son WPV serotipo 1^{28,32}. Desde 2005 se ha notificado transmisión por virus de la vacuna (VDPV) en Ucrania, Madagascar, Laos o Myanmar^{31,32}.

Se estiman 10-20 millones de supervivientes a nivel mundial (45.000 en España)²⁹.

El sarampión fue descrito en el año 900 por el médico persa Muhammad Rhazes³³. En España se registraban 301.319 casos en 1983, mientras que en 2010 se cuantificaban 274. Desde el 2001 ha descendido la cobertura de vacunación en Europa y en Estados Unidos, notificándose en 2011 unos 26.000 casos repartidos en 36 países europeos³⁴⁻³⁶.

Formas de transmisión y reservorios

El ser humano es el único hospedador tanto para la poliomyelitis como para el sarampión^{29,30}. La poliomyelitis es más prevalente durante los meses cálidos y se contagia vía fecal-oral u oral-oral, siendo la mayor transmisibilidad inmediatamente antes de desarrollarse la parálisis y 1-2 semanas después de iniciada esta. El PV se elimina durante 2 semanas por saliva y entre 3-6 semanas en las heces²⁸. El VDPV puede mutar hacia una forma virulenta, transmisible, que genera el mismo cuadro clínico y se da en regiones donde la cobertura de vacunación no es completa. Los sujetos con inmunodeficiencias pueden mantener infecciones crónicas y transmisibles al entorno^{28,31,32}.

En cuanto al sarampión, es uno de los microorganismos más infectocontagiosos, transmitido por vía aérea al entrar en contacto con las mucosas respiratorias o la conjuntiva. Los días de mayor contagio son 4 días antes y 4 días después de la aparición de la erupción cutánea^{30,35,36}.

Patogenia. Daño celular y respuesta inmune

El PV comienza su replicación en las mucosas faríngea e intestinal. Su receptor se expresa en múltiples estirpes celulares, que al ser infectadas producen una marcada cascada proinflamatoria. La respuesta inmunológica innata contiene la expansión del virus en la mayoría de los casos. Los Ac generados son serotipo-dependientes^{28,29}. El sarampión alcanza los ganglios linfáticos regionales, donde se replica para expandirse hacia células linforreticulares del bazo, hígado, médula ósea y pulmón³⁰.

Clínica y evolución de la enfermedad

El PI de la poliomielitis es de 3 a 6 días. Asintomático hasta en el 70% de las infecciones, en torno al 25% desarrollan cuadros leves inespecíficos. En menos de un 5% el virus produce una meningitis aséptica. Menos del 1% evoluciona a los 7-21 días tras el comienzo de los síntomas, produciendo la parálisis progresiva, flácida y asimétrica con alteración de los reflejos tendinosos y sin afectación sensitiva. La mortalidad sucede por la afectación de la musculatura respiratoria y por las alteraciones neurológicas autonómicas. Años después puede aparecer un síndrome post-poliomielitis con atrofia muscular, deterioro neurológico, trastornos gastrointestinales, respiratorios y del sueño. En inmunodeprimidos podría desencadenar síndromes post-poliomielitis y episodios de miastenia gravis^{28,29}.

El sarampión, después de un PI de entre 7-14 días, comienza con fiebre, tos, odinofagia y conjuntivitis no purulenta. Posteriormente aparecen las manchas de Koplik, a lo que sigue una erupción cutánea maculopapular, rojo-violácea, que comienza en la región retroauricular y se extiende al resto de la cabeza, el tronco y las extremidades sin respetar las palmas ni las plantas^{30,34-37}. Produce una activación inmunológica muy intensa, con un estado residual prolongado de inmunocompromiso³⁰. Las personas que recibieron las primeras vacunas y aquellas con inmunidad incompleta pueden desarrollar cuadros atípicos con un exantema de inicio en extremidades³³. Las complicaciones más frecuentes son la neumonía (primera causa de muerte), la diarrea y la otitis media. Otras complicaciones son la queratitis, la encefalitis o la panencefalitis subaguda esclerosante. Durante el embarazo puede producir abortos y nacimientos prematuros^{34,35,37}.

Diagnóstico

La OMS recomienda³² para el diagnóstico de las infecciones por PV la combinación de cultivo celular y técnicas moleculares. Las muestras clínicas adecuadas (2 muestras de heces recogidas con una diferencia de al menos 24h) deben ser inoculadas en células específicas con receptor de PV. Los métodos de caracterización de PV y otros enterovirus-no polio son: a) técnicas de microneutralización, y b) métodos moleculares: amplificación de la región VP1 y análisis de la secuencia. Si se identifica un PV, se debe realizar una caracterización intratípica (ITD) mediante 5 RT-PCR en tiempo real y secuenciación del genoma completo para diferenciar los PV vacunales de los salvajes.

Para el diagnóstico de sarampión, la RT-PCR es una técnica más rápida, sencilla y sensible que el aislamiento en cultivo celular. Hay disponibles ensayos de RT-PCR múltiple que permite realizar diagnóstico diferencial frente a otros virus exantemáticos³³. Las muestras de elección en la infección aguda son exudado faríngeo y/u orina.

La IgM es la técnica de elección en fase aguda. La determinación de Ac específicos IgG e IgM se puede realizar mediante: ELISA, quimioluminiscencia e IFI, siendo el diagnóstico serológico muchas veces de difícil interpretación. Se puede dar reacción cruzada de IgM con otros virus exantemáticos³³. El genotipado es una herramienta fundamental para caracterizar la cepa genéticamente de cara a conocer el patrón de circulación del virus³³.

En la poliomielitis la electromiografía puede mostrar hallazgos de denervación axonal, y en la resonancia magnética puede observarse en la proyección T2 una señal hiperintensa en el asta anterior que no realza con el contraste de gadolinio²⁸.

Diagnóstico diferencial

Diferenciaremos la poliomielitis del síndrome de Guillain-Barré, la mielitis transversa, infecciones por otros enterovirus (EV-A71, EV-D68) y coxsackievirus y la neuritis postraumática. El sarampión se evaluará junto a otras viriasis exantemáticas y con los arbovirus locales productores de dengue, fiebre por chikungunya o la enfermedad por virus zika³⁸.

Tratamiento

Existen fármacos en investigación para PV: H1PVAT (interfiere en el ensamblaje con el receptor celular), AG-7404 (inhibidor de la proteasa), ligando de la proteína humana de fusión oxysterol o inhibidores de la ARN-polimerasa. Se han sintetizado Ac neutralizantes útiles en portadores crónicos, en caso de brotes o en accidentes biológicos. En el síndrome post-poliomielitis se han empleado, sin datos concluyentes, el modafinilo, la piridostigmina, la lamotrigina, la amantadina o la prednisona²⁹. Es determinante la rehabilitación. Para el sarampión aplicamos tratamiento sintomático y abundante hidratación. La administración de vitamina A en niños ha demostrado disminuir la morbimortalidad^{34,35}.

Prevención

La vacunación universal es la mejor estrategia para la erradicación de ambas^{29,30}. Los enfermos de poliomielitis deben ser vacunados, ya que los Ac son serotipo-dependientes²⁹. Los viajeros a zonas con PV circulante deben estar correctamente inmunizados³¹.

La vacunación oral (OPV) es de virus vivos atenuados, barata y fácil de administrar. Genera inmunidad en la mucosa intestinal, con lo cual reduce la excreción de PV a través de las heces. En 2016 se retirará la OPV para evitar los brotes por VDPV-2^{28,31}. La vacuna inactiva (IPV) bloquea la transmisión a través de secreciones orales, por tanto alcanza menos protección comunitaria. Produce escasos efectos adversos y se puede administrar en inmunodeprimidos²⁸. La inmunogenicidad de cualquiera de ellas es próxima al 100%. El objetivo de los programas que combinan OPV e IPV sería potenciar la protección comunitaria y evitar la aparición de cuadros por el VDPV^{28,29}.

En España la vacunación se realiza con la IPV y se recomienda primovacunación con 2 dosis (2-4 meses de edad) y refuerzo a los 12 meses y a los 6 años de edad.

Para el sarampión se deben implantar las medidas de aislamiento respiratorio y de salud pública oportunas. El personal sanitario y los viajeros deben estar vacunados^{30,35}.

La primera vacuna monovalente se autorizó en los sesenta³⁰. La triple vírica (TV) se añadió al calendario de vacunación español en 1981. La TV contiene virus vivos atenuados de rubeola, parotiditis y sarampión. Hay que tener precaución en pacientes con inmunodeficiencias, y no es recomendable aplicarla durante el embarazo. Están en investigación vacunas más inmunogénicas que incrementan la expresión de la hemaglutinina, fundamental para generar

inmunidad. En España se recomienda primovacunación con una primera dosis a los 12 meses de edad y una segunda entre los 2-4 años de edad. En situaciones de brote activo o viaje a una zona endémica se puede adelantar en los niños a los 9 meses de edad y la población adulta susceptible recibirán 2 dosis separadas, al menos, un mes.

Toda persona no inmunizada expuesta a un caso debe recibir una dosis de vacuna TV en las primeras 72 h post-exposición, o Ig (en inmunocomprometidos, embarazadas o menores de 12 meses). La vacunación se retrasará hasta 6 meses después de la administración de la Ig³⁵.

Enfermedad transmitida por arbovirus: chikungunya, dengue y zika

Aspectos microbiológicos

Son virus con envuelta, icosaédricos y con ARN de cadena única y polaridad positiva, transmitidos a través de mosquitos del género *Aedes*.

Los virus dengue (DENV) y zika (ZIKV) pertenecen a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*. El DENV presenta 4 serotipos identificados (DENV 1-4)³⁹, y para el ZIKV se han descrito un linaje asiático y otro africano⁴⁰. Para el virus chikungunya (CHIKV), de la familia *Togaviridae* y género *Alfavirus*⁴¹, existen 3 linajes: África Occidental, Asiático y Central-Este-Sur de África (ECSA), con un posible cuarto linaje Indio derivado del linaje ECSA. Una mutación en una proteína de envuelta en el linaje ECSA facilita su transmisión por *Aedes albopictus*.

Epidemiología y distribución geográfica

El dengue, ya descrito en el siglo XVIII, se ha expandido a nivel mundial durante la segunda mitad del siglo XX en zonas tanto urbanas como rurales de Latinoamérica y Asia. También circula en regiones del oeste del África subsahariana, Centroáfrica, Egipto y algunos de los países africanos con costa al Índico. Se han notificado brotes en la península arábiga y casos autóctonos en Florida y Hawai³⁹. Causa unos 50-100 millones de casos por año, con 500.000 hospitalizaciones y 22.000 fallecimientos, y es la primera causa de fiebre con diagnóstico específico en el viajero de Asia y Latinoamérica.

ZIKV fue aislado en monos *rhesus* de los bosques Zika de Uganda, registrándose brotes limitados a países del centro y oeste de África hasta finales de los setenta, cuando se detecta en Indonesia. Durante la última década se extiende por Micronesia (2007 en la Isla de Yap), hasta la epidemia de 2013 en la polinesia francesa. En 2014 llega a la Isla de Pascua y es en 2015 cuando comienza en Brasil la epidemia actual y a extenderse por toda Latinoamérica³⁹.

El CHIKV es identificado en los cincuenta en Tanzania, con casos recortados en África y Sudeste asiático. Es en 2004 cuando comienza un brote en Kenia, que se extiende secuencialmente por el Índico, la India y Europa, detectándose el linaje ECSA; posteriormente se detecta el linaje Asiático en el Pacífico y se introduce y extiende desde 2013 este linaje en las Américas. El linaje que circula actualmente por América es el Asiático, y en 2014 se introdujo el linaje ECSA, por ahora solo en Brasil. Durante estos años ha habido brotes autóctonos en el norte de Italia, en el sur de Francia y en Florida.

Formas de transmisión y reservorios

Aedes aegypti es el principal vector de los 3 virus y mantiene una estrecha convivencia con el ser humano. Los hábitos del *Aedes albopictus* son más amplios y dispersos, pero hiberna como huevo favoreciendo su expansión⁴². *Aedes hensilli* ha sido responsable de epidemias por ZIKV y CHIKV⁴². El CHIKV se puede transmitir por

vía transovárica en el mosquito hembra, lo cual no parece suceder con DENV en el medio³⁸.

Estos virus presentan una transmisión enzoótica que involucra diferentes especies de mosquitos (generalmente *Aedes*) y simios no humanos⁴².

En la embarazada el riesgo más alto de transmisión para DENV y CHIKV se produce en una madre virémica durante el momento del parto; en cambio, no hay evidencia de transmisión a través de la leche materna⁴³. El ZIKV puede presentar una transmisión maternofetal⁴⁴. Otras posibles vías son los hemoderivados e incluso casos descritos de contagio de ZIKV por mordedura de mono y el posible contagio por vía sexual⁴⁰.

Patogenia. Daño celular y respuesta inmune

DENV muestra tropismo por las células de Langerhans, los glóbulos blancos y las células hematopoyéticas. Las células infectadas expresan la glucoproteína NS1. En un primer contagio el DENV produce una fuerte activación de mediadores proinflamatorios. Un segundo episodio por otro serotipo diferente desencadenaría una rápida activación de las células T memoria con un inicio explosivo de la cascada proinflamatoria, provocando el daño endotelial. La infección confiere inmunidad duradera al serotipo específico y de 2-3 meses frente a los otros³⁹. El CHIKV infecta los fibroblastos generando una potente respuesta inflamatoria, una migración de monocitos y macrófagos hacia la sinovial, y los osteoblastos sufren una transformación osteoclástica. La infección proporciona inmunidad adaptativa. Respecto al ZIKV poco se sabe con exactitud: se postula si las alteraciones neurológicas pueden deberse a reacciones inmunológicas cruzadas en poblaciones que han enfermado previamente de otros flavivirus.

Clínica

El PI para estos virus es en torno a 3-12 días; puede prolongarse hasta 20 días en el caso del dengue, el cual presenta una clínica variada desde pacientes asintomáticos a procesos febriles inespecíficos a cuadros con fallo multiorgánico. Después de 2 a 7 días de fiebre y síntomas generales inespecíficos aparece una erupción cutánea, confluyente y que palidece a la digitopresión. Signos de alarma son vómitos incoercibles, dolor abdominal, hepatomegalia, existencia de tercer espacio, aumento del hematocrito, trombocitopenia marcada, letargo y sangrado de mucosas³⁹.

El CHIKV comienza con fiebre alta, de aparición súbita, poliartalgias y exantema maculopapular que palidece a la digitopresión. La enfermedad crónica se caracteriza por la persistencia de síntomas osteoarticulares durante más de 3 meses. Es una infección de escasa mortalidad pero alta morbilidad^{41,45}.

La enfermedad por el virus zika es asintomática en aproximadamente el 80% de los casos. Cursa con fiebre, conjuntivitis y un exantema maculopapular; puede acompañarse de artalgias y síntomas gastrointestinales^{40,46}.

Complicaciones

Solo una pequeña proporción de los dengues se complican con hipertransaminasemia por encima de 1.000, encefalopatía, miocarditis, episodios hemorrágicos, shock y distrés respiratorio. El DENV-2 y DENV-3, las edades extremas, la existencia de comorbilidades y el intervalo de tiempo entre los diferentes episodios de dengue se asocian con mayor frecuencia a formas severas. Los cuidados intensivos apropiados reducen la mortalidad al 1%³⁹.

Tanto CHIKV como ZIKV se han relacionado con un incremento en la incidencia del síndrome de Guillain-Barré, aún sin datos concluyentes. Para CHIKV también se han descrito casos atípicos de encefalitis, miocarditis, pericarditis, neumonía, nefritis, hepatitis,

pancreatitis y complicaciones cutáneas. Las edades extremas de la vida y las comorbilidades acumulan la mayor incidencia de estas complicaciones. Los neonatos contagiados tienen un elevado riesgo de formas graves^{47,48}.

En cuanto a ZIKV, hay series publicadas de neonatos con un incremento en las tasas de alteraciones neurológicas y con detección directa del virus en tejidos del sistema nervioso central^{47,48}. La coinfección con dengue no ha mostrado incremento de gravedad.

Diagnóstico

La serología tiene mayor rendimiento diagnóstico para estos virus debido al corto periodo de viremia y es muy rentable a partir del quinto día tras el inicio de los síntomas³⁸. Existen numerosos ensayos disponibles para este fin (IFI, ELISA, inmunocromatografía)^{38,49}. Debido al alto grado de reactividad cruzada entre DENV y ZIKV, si no se dispone de resultados concluyentes de antígeno o PCR, identificaremos el agente causal con un ensayo de neutralización en laboratorios BSL-3. En la fase aguda se puede utilizar la RT-PCR y la detección de antígeno en suero (NS1 en el caso de DENV), con un alto rendimiento en la orina para el ZIKV⁵⁰. En algunos casos recientes de embarazadas se está detectando el virus en suero hasta un mes después del inicio de los síntomas.

En las pruebas de laboratorio, en el dengue puede objetivarse trombocitopenia, neutropenia, aumento de PCR y de las transaminasas³⁹. En el CHIKV son llamativamente anodinas y tampoco se detecta elevación del factor reumatoide o del Ac antipéptido citrulinado⁴⁹. En la enfermedad por zika puede aparecer leucopenia, aumento de la LDH y de la PCR, y no son comunes alteraciones hepáticas ni renales⁴⁰. Plantearíamos pruebas radiológicas en la fase crónica con el CHIKV o para detectar derrame pleural y ascitis en el dengue⁴¹.

Diagnóstico diferencial

Estas arbovirosis circulan simultáneamente por amplias regiones. Deben diferenciarse a su vez de otras fiebres exantemáticas, malaria, gripe, hepatitis, leptospirosis, infección meningocócica, etc.³⁸, y de otros patógenos fetales durante el embarazo con ZIKV⁴⁴.

Tratamiento

El tratamiento de los 3 virus es sintomático con analgesia, anti-térmicos y sueroterapia. En el dengue se desaconseja el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), y en los casos graves el hematocrito debe orientar el ajuste del volumen que se aporta. Si la situación lo requiere, pueden transfundirse hemoderivados³⁹. Existen algunos antivirales en investigación frente al dengue cuyas dianas son la NS3/NS2B proteasa y la NS5 polimerasa³⁹. Las artralgias del CHIKV se pueden manejar con paracetamol, AINE (siempre que hayamos descartado dengue) o metamizol, y si la afectación es difusa y prolongada pueden utilizarse corticoides, metotrexato y tratamientos biológicos. La cloroquina no ha demostrado eficacia. El favipiravir ha protegido a roedores de laboratorio frente al CHIKV, y la ribavirina, el ácido micofenólico, el IFN, la suramina, el uso de Ac monoclonales y los sueros hiperinmunes se han planteado como posibilidades terapéuticas^{41,43}.

Prevención

Se recomienda el control de vectores ya descrito en el apartado de encefalitis. *Dengvaxia*, una vacuna tetravalente de virus vivos para el DENV, ha demostrado una eficacia al año de seguimiento del 59,2% con 3 dosis, siendo superior contra DENV-3 y 4. Otras vacunas en estudio son TV003, en fase III en Brasil desde enero 2016, con resultados esperanzadores con una sola dosis publicados en *Science*

Translational Medicine. Las vacunas para CHIKV están en fases tempranas de los ensayos: vacunas de virus atenuados que usan la cepa que produjo la epidemia en La Reunión, vacunas quiméricas con el sarampión, la encefalitis de Venezuela, la encefalitis equina oriental o el virus de la estomatitis vesicular⁴³. Actualmente el desarrollo para vacunas contra ZIKV es escaso.

Financiación

Este artículo no ha dispuesto de financiación.

Conflicto de intereses

No existe ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A la Red de Investigación Cooperativa en Enfermedades Tropicales. RD06/0021/0000 y RD12/0018/0006; RICET (<http://www.ricet.es/>).

A Marta Diaz Menendez, Elena Trigo Esteban, Mar Lago Nuñez, Concepción Ladrón de Guevara, Pablo Barreiro, de la Unidad de Medicina Tropical del Hospital La Paz-Carlos III.

A José Manuel Echevarría, María Cabrerizo, Fernando de Ory y Aurora Fernández, del Centro Nacional de Microbiología, ISCIII.

Bibliografía

- Osterholm MT, Moore KA, Kelley NS, Brosseau LM, Wong G, Murphy FA, et al. Transmission of ebola viruses: What we know and what we do not know. *MBio*. 2015;6:e00137.
- Christie A, Davies-Wayne GJ, Cordier-Lasalle T, Blackley DJ, Laney AS, Williams DE, et al. Possible sexual transmission of ebola virus — liberia, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64:479–81.
- Chertow DS, Kleine C, Edwards JK, Scaini R, Giuliani R, Sprecher A. Ebola virus disease in West Africa—clinical manifestations and management. *N Engl J Med*. 2014;371:2054–7.
- Mora-Rillo M, Arsuaga M, Ramírez-Olivencia G, de la Calle F, Borobia AM, Sánchez-Seco P, et al. Acute respiratory distress syndrome after convalescent plasma use: Treatment of a patient with Ebola virus disease contracted in Madrid, Spain. *Lancet Respir Med*. 2015;3:554–62.
- Nouvellet P, Garske T, Mills HL, Nedjati-Gilani G, Hinsley W, Blake IM, et al. The role of rapid diagnostics in managing Ebola epidemics. *Nature*. 2015;528:S109–16.
- McElroy AK, Akondy RS, Davis CW, Ellebedy AH, Mehta AK, Kraft CS, et al. Human Ebola virus infection results in substantial immune activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:4719–24.
- Davey RT. PREVAIL II. A Randomized Controlled Trial of ZMapp™ in Acute Ebola Virus Infection. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Boston, Massachusetts, USA, February 22–25, 2016. Abstract 77LB.
- Sissoko D, Laouenan C, Folkesson E, M'Lebing AB, Beavogui AH, Baize S, et al. Experimental treatment with favipiravir for ebola virus disease (the JIKI Trial): A historically controlled, single-arm proof-of-concept trial in Guinea. *PLoS Med*. 2016;13:e1001967.
- Ohimain EI. Recent advances in the development of vaccines for Ebola virus disease. *Virus Res*. 2016;211:174–85.
- Lord JS, Gurley ES, Pulliam JRC. Rethinking Japanese encephalitis virus transmission: A framework for implicating host and vector species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0004074.
- Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet*. 2008;371:1861–71.
- Lincoln AF, Sivertson SE. Acute phase of Japanese B encephalitis; two hundred and one cases in American soldiers, Korea, 1950. *J Am Med Assoc*. 1952;150:268–73.
- Barzon L, Pacenti M, Ulbert S, Palù G. Latest developments and challenges in the diagnosis of human West Nile virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015;13:327–42.
- Negredo Antón AI, de Ory Manchón F, Sánchez-Seco Fariñas MP, Franco Narváez L, Gegúndez Cámara MI, Navarro Mari JM, et al. Diagnóstico microbiológico de arbovirosis y robovirosis emergentes. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33:197–205.
- Ergunay K, Tkachev S, Kozlova I, Růžek D. A review of methods for detecting tick-borne encephalitis virus infection in tick, animal, and human specimens. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2016;16:4–12.
- Kumar R, Tripathi P, Baranwal M, Singh S, Tripathi S, Banerjee G. Randomized, controlled trial of oral ribavirin for Japanese encephalitis in children in Uttar Pradesh, India. *Clin Infect Dis*. 2009;48:400–6.

17. Crance JM, Scaramozzino N, Jouan A, Garin D. Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: Antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses. *Antiviral Res.* 2003;58:73–9.
18. Miot HA, Ferreira DP, Mendes FG, Carrenho FR, Oliveira Amui I, Carneiro CA, et al. Efficacy of topical permethrin as repellent against *Aedes aegypti*'s bites. *Dermatology online journal. Dermatol Online J.* 2008; 14:1.
19. Rodríguez-Frias F, Jardi R, Buti M. Hepatitis E: virología molecular, epidemiología y patogénesis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30:624–34.
20. Khuroo MS, Kamili S, Jameel S. Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet.* 1995;345:1025–6.
21. Chau TN, Lai ST, Tse C, Ng TK, Leung VK, Lim W, et al. Epidemiology and clinical features of sporadic hepatitis E as compared with hepatitis A. *Am J Gastroenterol.* 2006;101:292–6.
22. Gupta DN, Smetana HF. The histopathology of viral hepatitis as seen in the Delhi epidemic (1955–56). *Indian J Med Res.* 1957;45 Suppl:101–13.
23. Tong MJ, el-Farra NS, Grew MI. Clinical manifestations of hepatitis A: Recent experience in a community teaching hospital. *J Infect Dis.* 1995;171 Suppl 1:S15–8.
24. Khuroo MS, Teli MR, Skidmore S, Sofi MA, Khuroo MI. Incidence and severity of viral hepatitis in pregnancy. *Am J Med.* 1981;70:252–5.
25. Avellon A, Morago L, Garcia-Galera MC, Munoz M, Echevarría JM. Comparative sensitivity of commercial tests for hepatitis E genotype 3 virus antibody detection. *J Med Virol.* 2015;87:1934–9.
26. Kamar N, Izopet J, Tripon S, Bismuth M, Hillaire S, Dumortier J, et al. Ribavirin for chronic hepatitis E virus infection in transplant recipients. *N Engl J Med.* 2014;370:1111–20.
27. Victor JC, Monto AS, Surdina TY, Suleimenova SZ, Vaughan G, Nainan OV, et al. Hepatitis A vaccine versus immune globulin for postexposure prophylaxis. *N Engl J Med.* 2007;357:1685–94.
28. Garon JR, Cochi SL, Orenstein WA. The challenge of global poliomyelitis eradication. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29:651–65.
29. Baj A, Colombo M, Headley JL, McFarlane JR, Liethof MA, Toniolo A. Post-poliomyelitis syndrome as a possible viral disease. *Int J Infect Dis.* 2015;35:107–16.
30. Garcés-Sánchez M, Renales-Toboso M, Bóveda-García M, Díez-Domingo J. Vacuna triple vírica. Resurgimiento de sarampión en Europa. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015;33:673–8.
31. Morales M, Nnadi CD, Tangermann RH, Wassilak S. Circulating vaccine-derived poliovirus outbreaks in 5 countries, 2014–2015. *Wkly Epidemiol Rec.* 2016;91:71–2.
32. WHO. Global Polio Eradication Initiative. Supplement to the WHO Polio Laboratory Manual. An alternative test algorithm for poliovirus isolation and characterization [consultado Dic 2006]. Disponible en: <http://www.polioeradication.org/resource/library/gplnpublications.aspx/>.
33. Mosquera MM, de Ory F, Moreno M, Echevarría JE. Simultaneous detection of measles virus, rubella virus and parvovirus B19 by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2002;40:111–6.
34. Muscat M, Marinova L, Mankertz A, Gatcheva N, Mihneva Z, Santibanez S, et al. The measles outbreak in Bulgaria, 2009–2011: An epidemiological assessment and lessons learnt. *Euro Surveill.* 2016;21, pii=30152.
35. Woo TM. Postexposure management of vaccine-preventable diseases. *J Pediatr Health Care.* 2016;30:173–82.
36. Sunnetcioglu M, Baran AI, Sunnetcioglu A, Mentos O, Karadas S, Aypak A. Clinical and laboratory features of adult measles cases detected in Van, Turkey. *J Pak Med Assoc.* 2015;65:273–6.
37. Echevarría JM, Fernández García A, de Ory F. Vigilancia microbiológica del sarampión y la rubéola en España. *Red de Laboratorios. Rev Esp Salud Pública.* 2015;89:381–91.
38. Franco L, Gegúndez M, Navarro JM, Negro A, de Ory F, Sánchez-Seco MP, et al. Diagnóstico microbiológico de arbovirosis y robovirosis. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica.* 2.ª ed. Elsevier España; 2013. p. 1–24.
39. WHO. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Library Cataloguing in Publication (NLM classification: WC 528).
40. Pinto Junior VL, Luz K, Parreira R, Ferrinho P. Vírus Zika: revisão para clínicos. *Acta Med Port.* 2015;28:760–5.
41. Hoz JM, Bayona B, Viloria S, Accini JL, Juan-Vergara HS, Viasus D. Fatal cases of Chikungunya virus infection in Colombia: Diagnostic and treatment challenges. *J Clin Virol.* 2015;69:27–9.
42. Higgs S, Vanlandingham D. Chikungunya virus and its mosquito vectors. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015;15:231–40.
43. Ahola T, Courderc T, Ng LF, Hallengård D, Powers A, Lecuit M, et al. Therapeutics and vaccines against Chikungunya Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015;15:250–7.
44. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A. Possible relation between Zika virus infection and microcephaly-Brazil 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:59–62.
45. Javelle E, Ribera A, Degasne I, Gaüzère BA, Marimoutou C, Simon F. Specific management of post-chikungunya rheumatic disorders: A retrospective study of 159 cases in Reunion Island from 2006–2012. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9:e0003603.
46. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536–43.
47. de Paula Freitas B, de Oliveira Dias JR, Prazeres J, Sacramento GA, Ko AI, Maia M, et al. Ocular findings in infants with microcephaly associated with presumed Zika virus congenital infection in Salvador, Brazil. *JAMA Ophthalmol.* 2016. <http://dx.doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2016.0267>.
48. 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;374:951–8.
49. Jacobsen S, Patel P, Schmidt-Chanasit J, Leparc-Goffart I, Teichmann A, Zeller H, et al. External quality assessment studies for laboratory performance of molecular and serological diagnosis of Chikungunya virus infection. *J Clin Virol.* 2016;76:55–65.
50. Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:84–6.