

Chikungunya: un virus que nos acecha

(Chikungunya: a threatening virus)

Eugenia Corrales-Aguilar¹, Adriana Troyo² y Ólger Calderón-Arguedas²

Resumen

El virus chikungunya representa una amenaza para Costa Rica. Este arbovirus ha sido introducido al continente americano desde finales de 2013. Debido a sus características epidemiológicas y virológicas, y a la presencia de sus vectores en el país, este virus puede llegar a convertirse en la nueva enfermedad endémica de Costa Rica. Aunque el chikungunya tiene una baja tasa de mortalidad, su alta tasa de ataque podría colapsar el sistema de salud nacional durante una epidemia. En esta revisión se resume aspectos clínicos, virológicos, epidemiológicos y entomológicos relacionados con esta virosis, para identificar, diagnosticar y diferenciar posibles casos de fiebre por chikungunya en el país. Además, se enfatiza en el control epidemiológico y de vectores, para prevenir epidemias de esta enfermedad en Costa Rica.

Descriptores: chikungunya, virus, patogénesis, *Aedes*, Costa Rica.

Abstract

Chikungunya virus represents a threat to Costa Rica. This arbovirus was introduced to the American continent during the last trimester of 2013. Due to its epidemiological and virological characteristics, as well as to the presence of its vectors in the territory, chikungunya could become the next novel endemic disease in Costa Rica. Although chikungunya has a low mortality rate, its high rate of attack could cause a collapse of the national health system during an epidemic. In this review we summarize the clinical, virological, epidemiological and entomological characteristics associated to chikungunya virus for a proper identification, diagnosis and differentiation of chikungunya fever cases in the country. Furthermore, we emphasize the importance of the epidemiological and vector control in order to prevent epidemics of this disease in Costa Rica.

Keywords: Chikungunya, virus, pathogenesis, *Aedes*, Costa Rica.

Fecha recibido: 09 de octubre de 2014

Fecha aprobado: 23 de octubre de 2014

Afiliación de los autores:

¹Virología y Entomología Médica.

²Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

✉ eugenia.corrales@ucr.ac.cr

El virus chikungunya (CHIKV) es un arbovirus transmitido por mosquitos vectores, principalmente dentro del género *Aedes*. El nombre de la fiebre del chikungunya (CHIKF) se deriva del lenguaje makonde, hablado en el sur de Tanzania, que significa “aquel que se dobla del dolor”, refiriéndose a la postura que adquieren los pacientes, debido a los dolores articulares característicos de esta enfermedad. Tras ser aislado por primera vez en 1952 en Tanzania,¹ el CHIKV cobró importancia a nivel mundial debido a una epidemia masiva en varias islas del Océano Índico.² Desde 1952 hasta 2005 ha causado brotes y epidemias esporádicas en África y Asia.³ Ha llamado la atención del mundo desarrollado, por la introducción en 2005 a la isla Reunión, un protectorado francés,² y por brotes en áreas mediterráneas de Italia en 2007⁴ y Francia en 2010.⁵ En ambos casos se demostró la transmisión autóctona tras el regreso de residentes infectados provenientes de India.⁴⁻⁶ Para el continente americano, la transmisión del CHIKV empezó a finales de 2013 en varias islas de El Caribe.^{7,8}

El virus chikungunya pertenece a la familia *Togaviridae* y al género de los *Alfavirus*, junto a las encefalitis equinas del este, del oeste, venezolana, y al virus mayaro, entre otros.⁹ Estos virus se caracterizan por ser pequeños, con un diámetro de 60-70 nm, poseer membrana lipídica y una cápside icosaédrica. Tienen un genoma ARN de banda simple con polaridad positiva, que codifica para 4 proteínas no estructurales (nsP1-4) y 3 proteínas estructurales (C, E1, E2). El virus se adhiere a la superficie celular por medio de receptores aún no identificados; la endocitosis mediada por clatrina permite al virus entrar a la célula blanco,¹⁰ se produce una fusión de membranas y, por último, la nucleocápside llega al citoplasma.¹¹ El ciclo de replicación es sumamente rápido, pues dura apenas 4 horas.¹²

A partir de análisis filogenéticos de los CHIKV circulantes, se ha demostrado la diferenciación en 3 linajes con características genotípicas y antigénicas distintivas para cada uno: el ECSA ('eastern/central Africa', por sus siglas en inglés), el grupo filogenético asiático y el del oeste africano.^{13,14} Análisis de las cepas circulantes en *Aedes albopictus* han demostrado la presencia de varias mutaciones: una de ellas en el gen que codifica para la proteína E, la sustitución de una alanina hacia una valina en el amino ácido 226 (A226V),¹⁵ que junto con otras mutaciones M269V y D284E, han demostrado ser características de las cepas del océano Índico.^{16,17} De suma importancia es la primera, ya que provocó una capacidad de adaptación viral mejorando su transmisión por *Ae. albopictus*.^{16,17} Cabe destacar que en la cepa del linaje asiático introducida en América, hasta ahora no se ha observado la presencia de esta mutación.¹⁸

Epidemia en América

Hasta finales de 2013, todos los casos de CHIKF reportados en territorios de América habían sido importados. Sin embargo, su posible introducción al continente ya había sido alertada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de América, dada la amplia distribución del vector, el transporte de personas y la susceptibilidad inmunológica de la población (OPS/CDC. Preparación y respuesta ante la

eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. Washington, D.C; 2011. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/dmdocuments/CHIKV_Spanish.pdf).

Los primeros casos sospechosos de CHIKF en América se detectaron en noviembre de 2013 en el territorio francés de la isla caribeña de Saint Martin.⁷ A inicios de diciembre del mismo año, los análisis de laboratorio realizados en el Centro Nacional de Referencia de Arbovirus de Francia, confirmaron que el CHIKV estaba circulando. De 26 sospechosos, 20 fueron identificados como casos confirmados o probables, mediante RT-PCR o detección de IgM, respectivamente.⁷ Según el estudio epidemiológico realizado, el patrón de ocurrencia de casos sugiere que el primero se presentó a inicios de octubre y a partir de este comenzó la transmisión activa.⁷

Luego de la confirmación del brote en Saint Martin, se implementaron actividades de vigilancia en otros territorios de El Caribe y se reportaron los primeros casos autóctonos en Martinica, Guadalupe y San Bartolomé, durante la segunda mitad de diciembre de 2013.¹⁹ Posteriormente, el virus se expandió a los territorios vecinos y a la mayoría de las islas de El Caribe y del Atlántico cercano, favorecido por el alto tráfico de personas. Según los datos de la OPS actualizados al 31 de octubre de 2014, entre las islas que no han confirmado casos autóctonos están Cuba y Bermuda (Datos mapas y estadísticas de OPS/OMS: Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40931&lang=es).

La primera detección de CHIKV en América continental se produjo en febrero de 2014 en Guayana Francesa,¹⁹ territorio que al 31 de octubre de 2014 ha notificado 3753 casos confirmados. (Datos mapas y estadísticas de OPS/OMS: Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40931&lang=es). En junio se informó acerca de un brote en la región centroamericana, específicamente en El Salvador, el cual fue confirmado (Ministerio de Salud de El Salvador. MINSAL: Alerta sobre evolución de enfermedad febril eruptiva. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de <http://www.salud.gob.sv/novedades/noticias/noticias-ciudadanas/285-junio-2014/2459--15-06-2014-minsal-alerta-sobre-evolucion-de-enfermedad-febril-eruptiva.html>). Ya para julio se reportaron los primeros casos autóctonos en Venezuela, los Estados Unidos de América, Panamá y Costa Rica; en septiembre, en Colombia, Brasil y Guatemala, y en octubre, en Nicaragua y Paraguay. De los países del continente americano, El Salvador (16389 casos sospechosos y 54 confirmados), Colombia (19335 casos sospechosos y 368 confirmados) y Venezuela (7072 casos sospechosos y 328 casos confirmados) son los que han reportado la mayor cantidad de casos al 31 de octubre de 2014. (Datos mapas y estadísticas de OPS/OMS: Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas. Recuperado el 5 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40931&lang=es).

A partir de estudios filogenéticos se determinó que el CHIKV circulante en América es del linaje asiático,^{7,20} lo cual podría responder a brotes importantes presentados durante 2013 en varias regiones de India, Indonesia, Micronesia, Filipinas, Singapur, Papúa Nueva Guinea y Nueva Caledonia.²⁰

La epidemia de CHIKF en América está establecida y comparte el carácter explosivo de las epidemias causadas por este virus en otras regiones, donde las tasas de ataque pueden alcanzar el 40%.^{3,21} Según la OPS, al 31 de octubre de 2014 se ha notificado un total de 780206 casos sospechosos y 13357 casos confirmados de CHIKF en América (Datos mapas y estadísticas de OPS/OMS: Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40931&lang=es). República Dominicana es el país que concentra el mayor número de casos (486306 casos sospechosos), reportados desde el inicio de la epidemia, en abril de 2014 (Datos mapas y estadísticas de OPS/OMS: Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40931&lang=es).

Transmisión vectorial

Ciclos de transmisión selvática

La infección con el CHIKV posiblemente es de origen enzoótico. Actualmente se reconoce en África la ocurrencia de un ciclo selvático que tiene lugar entre mosquitos y primates no humanos.²² Estudios efectuados en Senegal demuestran que mosquitos del género *Aedes* y específicamente de los subgéneros *Diceromyia* y *Stegomyia*, se ven primariamente implicados en dicho ciclo.²³ Entre las principales especies figuran: *Aedes furcifer*, *Aedes taylori*, *Aedes luteocephalus* y *Aedes africanus*.²³ También han sido ocasionalmente implicados: *Culex annulirostris*, *Mansonia uniformis* y algunos mosquitos del género *Anopheles*.²⁴ En relación con los vertebrados que participan en el ciclo, estudios de aislamiento viral han incriminado a primates no humanos como posibles reservorios del virus. Entre estos figuran: *Cercopithecus aethiops*, *Papio papio*, *Erythrocebus patas* y *Galago senegalensis*.²³ Adicionalmente, se han podido efectuar aislamientos en otras especies de mamíferos, como la ardilla *Xerus erythropus* y los murciélagos del género *Scotophilus*,²⁵ lo que plantea la posibilidad de que se presenten ciclos enzoóticos en los que se involucren otros reservorios aparte de los primates. Algunos autores sostienen que ciclos similares pueden tener lugar en Asia, ya que se ha determinado la ocurrencia en primates de la especie *Macaca cinica*, seropositivos por el virus.²⁶

La relevancia de estos ciclos de transmisión podría ser manifiesta, en tanto residentes de localidades cercanas a áreas selváticas donde se ha evidenciado la circulación selvática del CHIKV, han experimentado la infección por vinculación con ese ciclo.²³

Ciclo urbano

A diferencia de otras virosis como la encefalitis equina del oeste (EEO), la encefalitis equina del este (EEE) y la encefalitis

por el virus del Nilo Occidental (WNV), donde los seres humanos hacen viremias muy bajas que los excluyen de ser posibles reservorios,²⁷ en el caso del CHIKV, la viremia alcanzada en el humano (en el orden de 10^{7-9} UFP/mL²⁸) lo faculta para desempeñarse como reservorio de los ciclos urbanos. En este contexto, las especies de mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* figuran como los principales vectores, y la transmisión ocurre mediante un ciclo humano-mosquito-humano.²⁹ *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* exhiben características favorables para la transmisión, dadas sus características biológicas y ecológicas, entre las que se debe destacar su antropofilia, endofilia y su predilección por ovipositar en contenedores artificiales, los cuales constituyen eficientes criaderos para el desarrollo de sus formas inmaduras.²² Estas especies, además, realizan por lo general alimentaciones incompletas, lo que posibilita picar a varias personas durante cada ciclo gonotrófico, aumentando las posibilidades de transmisión de la virosis.³⁰

Desde un punto de vista de relación ecológica, tanto *Ae. aegypti* como *Ae. albopictus* son altamente competentes, lo que refleja la permisividad biológica de ambas especies de mosquitos para que los virus efectúen su ciclo extrínseco viral, el cual comprende los eventos que van desde la infección hasta la concentración de las partículas virales en glándulas salivales.³¹

Parece que algunas mutaciones que ha experimentado el CHIKV facilitan su capacidad de dispersión por parte de estos vectores. En este sentido, se ha de mencionar que durante el brote en la isla Reunión, se identificó una mutación denominada A226V E1, en la cual ocurrió un recambio de una alanina por una valina en la posición 226 de la proteína de la envoltura 1 (E1); esta mutación facilita la transmisión del virus por parte de *Ae. albopictus*, sin que haya sido vinculada con una potenciación en capacidad patogénica.³²

Competencia vectorial

El ciclo extrínseco en el vector es un proceso biológico mediante el cual los mosquitos que se han infectado llegan a ser infectantes, es decir, tienen la capacidad de transmitir el virus a otros hospedadores vertebrados. En dicho ciclo, el tránsito viral implica los procesos de infección, diseminación y concentración en glándulas salivales, y su extensión abarca desde la infección hasta la demostración de las partículas virales en saliva. Estudios efectuados mediante infecciones experimentales con los vectores *Ae. aegypti* y *Ae. Albopictus*, han demostrado que a 28° C el ciclo extrínseco tiene una duración media de 6 días para *Ae. Albopictus*, y 7 para *Ae. aegypti*.³³ Es destacable que en dichos experimentos se demostró que en algunos casos la detección de partículas virales en glándulas salivales, ocurre en periodos tan cortos como de 2 días.³³ Tanto *Ae. aegypti* como *Ae. albopictus* son especies muy competentes en la transmisión de la virosis.

En el contexto regional, un estudio evaluó la competencia vectorial de 35 cepas de mosquitos *Aedes* de Latinoamérica (22 de *Ae. aegypti* y 13 de *Ae. albopictus*), con 3 cepas del CHIKV, a saber: CHIKV_0621 (genotipo ECSA), CHIKV_115 (genotipo ECSA) y CHIKV_NC (genotipo asiático).³⁴ Globalmente, se determinó que ambas especies tienen una alta competencia

Cuadro 1: Sintomatología y hallazgos de laboratorio diferenciales entre el dengue y el chikungunya.

Síntomas o hallazgos de laboratorio	Chikungunya	Dengue
Fiebre (> 39° C)	+++	+
Mialgias	+	++
Artralgias	+++	-
Cefalea	++	++
Rash (exantema)	++	++
Dolor retroorbital	+/-	++
Hipotensión	+/-	++
Sangrados	+/-	++
Neutropenia	+	+++
Trombocitopenia	+	+++
Hematocrito elevado	-	++

Basado en OPS/CDC. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. Washington, D.C; 2011. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/dmdocuments/CHIKV_Spanish.pdf

vectorial, siendo su potencial de infectividad superior al 83,3%.³⁴ Otro estudio efectuado en Florida, incluyó la especie *Culex quinquefasciatus* en un estudio de competencia vectorial por CHIKV, y se constató que esa especie era susceptible de infectarse, pero era incapaz de efectuar su diseminación por hemolinfa y la subsiguiente concentración en glándulas salivales, por lo que los vectores probables ante un eventual brote serían: *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.³¹

A pesar de que muchos agentes virales tienen la capacidad de propagarse por transmisión vertical, lo que constituye una condición que favorecería la propagación del virus entre los invertebrados, en el caso de CHIKV la transmisión vertical no ha sido demostrada como relevante,³⁵ por lo que la principal forma de propagación sigue siendo la transmisión horizontal.

Coinfecciones en los vectores

La ocurrencia de coinfecciones entre dengue y CHIKV en seres humanos, ha sido informada en pacientes que habitan en áreas endémicas para ambos virus.³⁶ No obstante, la información relativa a mosquitos es limitada. Vazeille y colaboradores (2010) demostraron, mediante sistemas experimentales, que en mosquitos infectados simultáneamente con dengue y CHIKV, los virus son capaces de alcanzar las glándulas salivales de forma concomitante, sin que haya depleción en alguno de ellos.³⁷ Esto favorecería la ocurrencia de infecciones múltiples en seres humanos.

Aspectos virológicos

Diseminación viral y órganos blanco

Después de la inoculación intradérmica por mosquitos infectados, el CHIKV entra directamente a los capilares

subcutáneos donde la replicación viral inicia.²² Algunas células blanco son los macrófagos, fibroblastos o células endoteliales locales. Esta replicación es local y de corta duración, y el virus producido es probablemente transportado a órganos linfáticos secundarios cercanos al sitio de inoculación.³⁸ Aquí, las células infectadas como los macrófagos, pueden producir nuevos virus e infectar células susceptibles. Incluso si se produce una respuesta inmune en la dermis para controlar el virus, este logra diseminarse rápidamente hacia sangre. Esta viremia desemboca en una infección de varios órganos o tejidos, como: hígado, músculo, articulaciones y cerebro.³⁸ En estos tejidos, la infección se asocia a una fuerte infiltración de células mononucleares, consideradas como ‘caballos de Troya’ que promueven la diseminación.²² El efecto en el hígado (apoptosis de hepatocitos) y en órganos linfáticos (adenopatías) es generalmente subclínico, sin embargo, la infiltración mononuclear y la replicación viral en músculo y articulaciones se asocian a un dolor fuerte y con artritis.³⁹ Durante la primera semana, la viremia puede alcanzar niveles altos, de hasta 3.3×10^9 copias/ml.²⁸

Inmunopatogénesis

La respuesta inmune innata es la primera barrera contra los virus. El sistema de interferón limita la diseminación viral en etapas tempranas y restringe la patología viral.⁴⁰ Distintos estudios han demostrado la inducción de numerosas citoquinas proinflamatorias que, entre otros efectos, activan la respuesta inmune adaptativa con células CD8+ presentes en fases iniciales de la infección, y células CD4+ en fases más tardías.⁴¹ Los monocitos son las células más involucradas durante la infección por CHIKV en la diseminación viral y la aparición de complicaciones crónicas en los pacientes, en la inflamación de las articulaciones por su infiltración.^{39,42} Además, pueden ser las células responsables de la diseminación del virus a otros tejidos con poco acceso celular, como el cerebro.²²

La enfermedad clínica tiene una duración de 7 a 10 días.⁴³ La recuperación se asocia a una respuesta inmune fuerte que protege contra reinfecciones.^{32,44} Sin embargo, en ciertos casos (algunos estudios llegan a decir que hasta en un 12% de los infectados⁴⁵) se establece enfermedad crónica artrálgica aun después de la eliminación del virus en sangre por la respuesta inmune, pero con la posible persistencia del virus en las articulaciones.³⁹ Varios marcadores de inflamación como interferón alfa, IL-6, MCP-1 y MMP-2, se han encontrado en los líquidos sinoviales de pacientes crónicos con afectaciones, y no en los que se han recuperado.⁴⁶ Este proceso inflamatorio puede persistir más de 1 año después de los síntomas iniciales.³⁹ Muchos de los mecanismos involucrados en la inmunopatogénesis son desconocidos hasta el momento y se necesita más estudios para dilucidarlos.

Manifestaciones clínicas

Después de la infección con CHIKV se produce un periodo de incubación de 3-7 días en promedio (Figura 1). Hasta un 28% de los individuos pueden ser asintomáticos.²² El CHIKV podría presentar 3 fases: aguda, subaguda y crónica. La fase aguda se caracteriza por un inicio clínico abrupto, con fiebre alta (de más de 39°C), dolor de cabeza, dolor de espalda, mialgias

y artralgia. Esta última puede ser muy intensa, generalmente es simétrica y afecta sobre todo las articulaciones de los tobillos, las muñecas y las falanges, pero también puede afectar grandes articulaciones corporales, como la cadera y las rodillas.⁴⁷⁻⁴⁹ En un 40-50% de los casos, puede aparecer a los 2-5 días postinicio de la fiebre, un exantema máculo-papular, predominantemente en el tórax. Además, puede presentarse: náuseas, vómito, edema y tumefacción. En niños, se puede observar un exantema vesiculobuloso con descamación, petequias y gingivorragia.⁵⁰ Los hallazgos radiológicos son normales y ciertas pruebas de laboratorio, como velocidad de eritrosedimentación o la proteína C reactiva, se encuentran en rangos normales o moderadamente elevados.⁵¹ Puede observarse una ligera trombocitopenia, leucopenia y enzimas hepáticas elevadas. Con menos frecuencia se pueden presentar manifestaciones atípicas, como: retinitis, conjuntivitis, nefritis, pancreatitis, neumonía, entre otras (OPS/CDC. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. Washington, D.C; 2011. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/dmdocuments/CHIKV_Spanish.pdf). Algunas complicaciones neurológicas, como meningitis o encefalitis, han sido reportadas.⁵² Además, se ha descrito síndrome de Guillain-Barré asociado a infección por CHIKV.⁵³ El mecanismo por el cual el virus causa este daño no se conoce todavía, pero hay reportes que describen la presencia del virus en tejidos cerebrales en un modelo murino, lo que indica posible replicación viral en este.⁴⁴ También se han descrito otras complicaciones, como miocarditis o hepatitis, que podrían ser indirectamente causadas por exceso prolongado en la automedicación contra los dolores artrálgicos (OPS/CDC. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. Washington, D.C; 2011. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/dmdocuments/CHIKV_Spanish.pdf).

Generalmente, la infección por CHIKV no produce altas tasas de mortalidad en la población. Se considera que la presentación clínica varía según la edad, siendo los neonatos y los de la tercera edad los más propensos a desarrollar formas más graves.⁵⁴ Se ha demostrado transmisión congénita al feto, que puede producir cuadros severos en el neonato.⁵⁵ Además, las muertes han sido mayormente relacionadas con la presencia de otras comorbilidades, como diabetes, hipertensión o males crónicos en personas de la tercera edad.⁵⁴

Detrás los 10 días que aproximadamente dura la fase aguda, se entra en un curso clínico conocido como subagudo, donde la mayoría de los pacientes sentirá una mejoría en su estado general de salud, pero también algunos pueden presentar artralgias erráticas, repetitivas e incapacitantes. Estas manifestaciones suelen observarse en articulaciones menores, como manos, muñecas o pies (tobillos).²² Por lo general, estos síntomas son comunes de 2 a 3 meses postinicio de la enfermedad.

La fase crónica se caracteriza porque estos síntomas de dolor artrálgico permanecen por más de 3 meses. Es importante destacar que hasta un 12% de los pacientes pueden presentar hasta por 3 años, durante la fase crónica, dolores artrálgicos.⁴⁵ Los dolores suelen presentarse en las mismas articulaciones en las cuales se presentó el dolor durante la fase aguda. Se debe

tomar en cuenta consecuencias psicológicas del dolor y la fatiga crónica, como por ejemplo la tristeza y la depresión (Figura 1). Los factores de riesgo para la persistencia de los síntomas son: tener más de 65 años, presentar trastornos artríticos previamente y la severidad del cuadro durante la fase aguda.⁴⁶

Diagnóstico

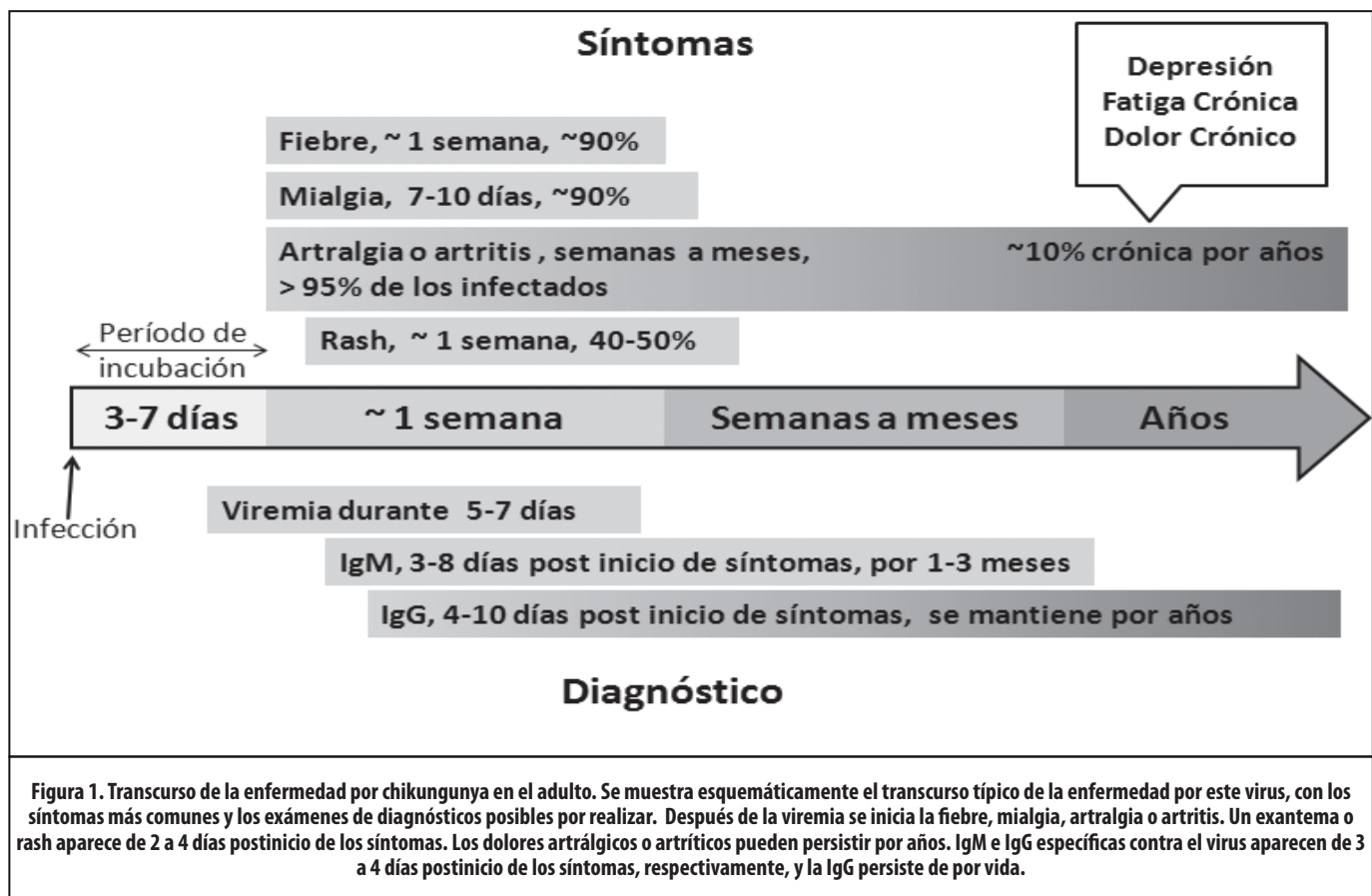
El diagnóstico se basa en criterios clínicos, epidemiológicos y de laboratorio. Desde el punto de vista clínico, un inicio abrupto de fiebre, junto con artralgia severa o artritis que no puede ser explicada por alguna otra causa médica, es considerado como posible de CHIKV. Se torna un caso probable, si el paciente vive o ha visitado alguna zona epidémica o con reportes de transmisión activa que calce con el periodo de incubación del virus (OPS/CDC. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. Washington, D.C; 2011. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/dmdocuments/CHIKV_Spanish.pdf). Sin embargo, la confirmación de laboratorio es fundamental, sobre todo para diferenciar el cuadro de distintas enfermedades febriles con manifestaciones clínicas similares, como el dengue, otras infecciones por alfavirus, enfermedad artrítica, o hasta malaria.

En general, para el diagnóstico de esta enfermedad se utilizan 3 pruebas: el aislamiento viral, la RT-PCR y la serología. Dependiendo del momento de la toma de la muestra y de la muestra en sí, se determinará el método de elección.

El aislamiento viral se puede realizar desde suero tomado en la fase aguda en líneas celulares de insecto, como las C6/36 o células Vero E6, o por inoculación intratecal de ratones neonatos.⁵⁶ Se debe transportar en frío al laboratorio, en menos de 48 horas después de haber sido tomada la muestra de sangre. Una desventaja de esta técnica es que los anticuerpos tipo IgM disminuyen el éxito del aislamiento viral, por lo que este se recomienda solo para muestras tomadas en un máximo de 2 días postinicio de síntomas.⁵⁶ Se recomienda realizar el aislamiento en laboratorios de seguridad 3 (BSL-3).

La detección de ARN viral o de partículas virales infecciosas por medio de RT-PCR,^{57,58} se puede realizar durante la fase virémica inicial, 5-10 días luego del inicio de los síntomas en muestras de suero (Figura 1). Igual que para el aislamiento, la muestra de sangre debe transportarse en frío al laboratorio, en menos de 48 horas después de haber sido tomada. Además, se puede realizar esta metodología en líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con cuadros neurológicos.

El diagnóstico también se puede realizar por métodos serológicos de captura de IgM o seroconversión de IgG con técnicas inmunoenzimáticas (ELISA), inmunofluorescencia indirecta, inhibición de la hemaglutinación o neutralización. La IgM puede ser detectada 2-3 días postinicio de los síntomas y persiste por semanas o hasta 3 meses (Figura 1).⁵⁹ La IgG inicia 4-6 días postinicio de los síntomas y persiste de por vida (Figura 1). Es importante confirmar la infección por CHIKV mediante el aumento de al menos 4 veces en el título de IgG medida por cualquier técnica serológica. Esto se efectúa mediante la



obtención de una segunda muestra de suero del paciente, al menos 15 días después de la toma de la primera.

Existen en el mercado pruebas rápidas para la detección de infección por CHIKV, pero su sensibilidad y especificidad han sido muy criticadas.⁶⁰

Otros tipos de muestras que se pueden usar para el diagnóstico son: órganos de autopsias o biopsias, líquido sinovial en caso de artritis con derrame, o mosquitos recogidos en el campo. Además, las muestras de suero para aislamiento viral y diagnóstico molecular por RT-PCR, si no van a ser prontamente transportadas al laboratorio, se aconseja congelarlas a -70°C. (OPS/CDC. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las Américas. Washington, D.C; 2011. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/dmdocuments/CHIKV_Spanish.pdf)

Con respecto al diagnóstico diferencial, es importante diferenciar con casos sobretodo de dengue (Cuadro 1). La mayoría de los casos de dengue son relativamente benignos y no requieren hospitalización, solo monitoreo y tratamiento contra los síntomas.^{61,62} Muchos casos de chikungunya no terminan en complicaciones severas, como el dengue hemorrágico o el síndrome de choque. Sin embargo, las manifestaciones clásicas de estas enfermedades se pueden traslapar con respecto a la fiebre, el dolor de cabeza, las mialgias y el exantema. Algunas diferencias clínicas han sido: la menor duración de la fiebre, la conjuntivitis, los dolores artrálgicos y la artritis aguda,

producidas comúnmente por el chikungunya,^{63,64} mientras que la leucopenia, la neutropenia, la trombocitopenia y el dolor abdominal, son más frecuentes en dengue.⁶³⁻⁶⁵ Estudios han determinado que con solo el valor de las plaquetas obtenido en el laboratorio, se puede clasificar correctamente como chikungunya, el 89% de los casos.⁶⁵ Este corte se estableció en 118×10^3 plaquetas por ml de sangre. Los valores obtenidos por debajo de este corte son indicativos de dengue. Si el cuadro presenta también manifestaciones hemorrágicas, se descarta la afectación por chikungunya, y la correcta clasificación como dengue alcanza el 98% de los casos.⁶⁵

Tratamiento y prevención

Hasta la fecha no existen drogas o medicamentos específicos que actúen contra el CHIKV. Los pacientes suelen ser tratados para aliviar los síntomas con drogas antiinflamatorias no esteroideas, o medicamentos para disminuir la fiebre y el dolor, como: ibuprofeno, naproxeno, acetaminofén o paracetamol. La ribavirina, 2 veces al día y por largos periodos, para los pacientes crónicos, parece ser marginalmente efectiva, y promueve una mejoría más rápida en las manifestaciones articulares.⁶⁶ De manera experimental, se han probado varios compuestos antivirales usados contra los alfavirus y se ha demostrado cierta efectividad en algunos de ellos, como el 6-azauridinet.⁶⁷ Se ha analizado combinaciones de interferón alfa con ribavirina y se ha observado cierto efecto sinérgico efectivo contra el CHIKV.⁶⁷

La vacunación es el mejor método de prevención contra enfermedades virales y los métodos de inmunidad pasiva

también son efectivos. La infección por CHIKV produce una respuesta inmune protectora de larga duración, por lo que esta virosis es un candidato ideal para la producción de una vacuna efectiva. Inmunoglobulinas polivalentes purificadas de plasma, de pacientes en la fase convaleciente de la enfermedad, presentan altos títulos de anticuerpos neutralizantes *in vitro* y demuestran efectividad terapéutica contra la infección en modelos murinos.⁶⁸ Esto podría implementarse en pacientes con alto riesgo de enfermedad severa, como en neonatos de madres virémicas o adultos con comorbilidades.

Hasta la fecha se han desarrollado diferentes vacunas, pero ninguna ha sido aprobada para su uso. Esto puede obedecer a factores como la falta de validación de un buen modelo animal para su prueba, determinación de la dosis y ruta de administración, posible interferencia con otras vacunaciones virales y, por último y más importante, el costo del desarrollo, pues el virus afecta en su mayoría regiones geográficas que pertenecen al mundo en desarrollo. Sin embargo, existen intentos para desarrollar posibles candidatos. Uno de ellos, con resultados prometedores, fue un virus atenuado llamado TSI-GSD-218, probado por el ejército estadounidense.⁶⁹ También hay candidatos de vacunas quiméricas, junto con la cepa de virus vacunal atenuada de la encefalitis equina del este TC-83.⁷⁰ En 2012, el ejército estadounidense desarrolló una vacuna viva atenuada denominada CHIKV181/25, que demostró ser efectiva, pero el 8% de los vacunados presentó artralgias transitorias.⁷¹ Hay otras estrategias, como vacunas quiméricas,⁷⁰ vacunas de partículas parecidas a virus VLP ('virus like particles', por sus siglas en inglés),⁷² o vacunas tipo ADN con plásmidos, que codifican para las proteínas de la cápside.⁷³

Ante la carencia de una vacuna y tratamiento antiviral para el CHIKV, al igual que para dengue, el control de vectores representa la alternativa para prevenir la ocurrencia de brotes o de eventos epidémicos.²⁴ El buen ordenamiento ambiental, que promueva un ambiente libre de criaderos de *Ae. aegypti* y *Ae. Albopictus*, es fundamental para evitar tener poblaciones de vectores de tal magnitud, que propicien la transmisión viral. El tratamiento con larvicidas como temefós, o *Bacillus thuringensis var israelensis*, también suele ser importante, sobre todo cuando existen criaderos que por su naturaleza no pueden ser eliminados. No obstante, en caso de epidemia, el control adulticida con insecticidas fumigantes, como la deltametrina, la cipermetrina u otros piretroides sintéticos, se hace necesario. A nivel gubernamental, se requiere contar con un eficiente sistema de vigilancia epidemiológica y entomológica, que pueda alertar sobre las variaciones en la epidemiología y biología de los vectores, así como en la evaluación de los tratamientos, durante o luego de un evento epidémico.⁷⁴

Además de todas estas medidas, es primordial implementar un programa centinela para la identificación y diagnóstico oportuno de casos sospechosos, y medidas de cuarentena apropiadas para pacientes diagnosticados con CHIKF.

Costa Rica ante el riesgo de chikungunya

Costa Rica cuenta con condiciones favorables para el desarrollo de una epidemia de CHIKF. Su población, al no

haber estado en contacto previo con el virus, es completamente susceptible a la infección. Además, tanto *Ae. aegypti* como *Ae. albopictus* están presentes en una gran parte del territorio nacional, y específicamente *Ae. albopictus* ha ampliado su distribución geográfica en los últimos años.⁷⁵ Considerando el linaje del virus que está circulando en la región y las altas densidades de *Ae. aegypti* que pueden albergar los asentamientos humanos, este ha sido el vector asociado con las transmisiones en América y, posiblemente, sea el vector principal ante una epidemia en Costa Rica. Sin embargo, en el país se ha comprobado que ambos vectores pueden desarrollarse en los mismos tipos de depósitos de agua en las viviendas o sus alrededores,⁷⁶ por lo que el papel de *Ae. albopictus* en la transmisión, podría ser relevante en las localidades donde esta especie predomina.

Muchos de los elementos de la transmisión del CHIKV son similares al virus dengue, por lo que sería esperable que una epidemia de CHIKV se establezca mejor en condiciones que incluyeran, por ejemplo, la estación lluviosa, alta densidad de población y centros poblacionales en zonas bajas y con alta temperatura.⁷⁷ Durante 2013, Costa Rica reportó 49993 casos de dengue, el mayor número de su historia (Ministerio de Salud de Costa Rica. Situación dengue 2013 a la semana #52, Costa Rica, Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de <http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/inicio-vigilancia-analisis-situacion-salud-ms>), lo que demuestra las condiciones favorables para la transmisión de estos virus en el país. Asimismo, el panorama de una epidemia de CHIKV en Costa Rica y el resto de la región centroamericana es cada vez más probable, debido a la ocurrencia de brotes recientes en diferentes países y la epidemia en El Salvador.

La expansión del CHIKV en América ha sido un fenómeno rápido, posiblemente asociado con la facilidad de transmisión intrínseca de este virus y con las condiciones locales. La gran cantidad de casos en corto tiempo demuestra la alta tasa de ataque y capacidad explosiva de las epidemias por CHIKV, como en República Dominicana (Datos mapas y estadísticas de OPS/OMS: Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40931&lang=es). En Costa Rica, los sistemas de salud han colapsado en situaciones como la ocurrida con el dengue en 2013, pero una epidemia de CHIKV podría llegar a ser mucho mayor en términos de demanda de servicios médicos e incapacidades. Por lo tanto, es necesario desarrollar todas las medidas posibles para prevenir una epidemia de esta magnitud, y mitigar los efectos que el virus dengue y el CHIKV podrían tener en el sistema de salud.

Conclusiones

La virosis por chikungunya es una entidad clínica emergente en América. Las condiciones medioambientales, la carencia de inmunidad en la población y la alta prevalencia de los vectores *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en entornos urbanos y semiurbanos, perfilan esta virosis como una enfermedad infecciosa de propagación rápida, que podría afectar grandes segmentos de población. Dado su potencial incapacitante y la necesidad de

analgésia, el CHIKV representa un reto económico para los sistemas de salud, una vez que la expansión epidémica empiece a tener lugar. Es preciso que el personal clínico pueda efectuar un diagnóstico diferencial adecuado para descartar dengue u otras enfermedades febriles, y de esta forma no colapsar los sistemas hospitalarios, los cuales se han visto muy afectados con la expansión continental del dengue.

Dada la ausencia de vacunas y drogas de efecto antiviral, el control vectorial constituye la alternativa de prevención, y sus acciones deben ser desarrolladas, planificadas e implementadas de forma multisectorial, tomando en cuenta también a la población.

Conflicto de interés: los autores no presentan conflictos de interés.

Agradecimientos: a la Vicerrectoría de Acción Social de la Universidad de Costa Rica, por el apoyo brindado a los proyectos #548 y #541.

Referencias

- Robinson MC. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1955;49(1):28–32.
- Enserink M. Infectious diseases. Massive outbreak draws fresh attention to little-known virus. *Science.* 2006;311(5764):1085.
- Weaver SC. Arrival of chikungunya virus in the new world: prospects for spread and impact on public health. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(6):e2921.
- Charrel RN, de Lamballerie X. Chikungunya virus in north-eastern Italy: a consequence of seasonal synchronicity. *Euro Surveill.* 2008;13(1).
- Grandadam M, Caro V, Plumet S, Thiberge JM, Souarès Y, Failloux A-B, *et al.* Chikungunya virus, southeastern France. *Emerg Inf Dis.* 2011;17(5):910–3.
- Rezza G, Nicoletti L, Angelini R, Romi R, Finarelli AC, Panning M, *et al.* Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet.* 2007;370(9602):1840–6.
- Cassadou S, Boucau S, Petit-Sinturel M, Huc P, Leparç-Goffart I, Ledrans M. Emergence of chikungunya fever on the French side of Saint Martin island, October to December 2013. *Euro Surveill.* 2014;19(13).
- Fischer M, Staples JE. Notes from the field: chikungunya virus spreads in the Americas - Caribbean and South America, 2013-2014. *MMWR. Morb Mortal Wkly Rep.* 2014;63(22):500–1.
- Taubitz W, Cramer JP, Kapaun A, Pfeffer M, Drosten C, Dobler G, *et al.* Chikungunya fever in travelers: clinical presentation and course. *Clin Infect Dis* 2007;45(1):e1–4.
- Lee RCH, Hapuarachchi HC, Chen KC, Hussain KM, Chen H, Low SL, *et al.* Mosquito cellular factors and functions in mediating the infectious entry of chikungunya virus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(2):e2050.
- Sourisseau M, Schilte C, Casartelli N, Trouillet C, Guivel-Benhassine F, Rudnicka D, *et al.* Characterization of reemerging chikungunya virus. *PLoS Path.* 2007;3(6):e89.
- Solignat M, Gay B, Higgs S, Briant L, Devaux C. Replication cycle of chikungunya: a re-emerging arbovirus. *Virology.* 2009;393(2):183–97.
- Schuffenecker I, Itean I, Michault A, Murri S, Frangeul L, Vaney M-C, *et al.* Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *PLoS Med.* 2006;3(7):e263.
- Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC. Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. *J Gen Virol.* 2000;81(Pt 2):471–9.
- De Lamballerie X, Leroy E, Charrel RN, Tsetsarkin K, Higgs S, Gould EA. Chikungunya virus adapts to tiger mosquito via evolutionary convergence: a sign of things to come? *Virology.* 2008;5:33.
- Tsetsarkin KA, Vanlandingham DL, McGee CE, Higgs S. A single mutation in chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential. *PLoS Path.* 2007;3(12):e201.
- Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, *et al.* Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*. *PLoS one.* 2007;2(11):e1168.
- Mansuy J-M, Grouteau E, Mengelle C, Claudet I, Izopet J. Chikungunya in the Caribbean—threat for Europe. *Emerg Inf Dis.* 2014;20(8):1423–5.
- Van Bortel W, Dorleans F, Rosine J, Blateau a, Rousset D, Matheus S, *et al.* Chikungunya outbreak in the Caribbean region, December 2013 to March 2014, and the significance for Europe. *Euro Surveill.* 2014;19(13).
- Lanciotti RS, Valadere AM. Transcontinental movement of Asian genotype chikungunya virus. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(8):1400–2.
- Thiberville S-D, Moyen N, Dupuis-Maguiraga L, Nougairède A, Gould EA, Roques P, *et al.* Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Res.* 2013;99(3):345–70.
- Caglioti C, Lalle E, Castilletti C, Carletti F, Capobianchi MR, Bordini L. Chikungunya virus infection: an overview. *New Microbiol.* 2013;36(3):211–27.
- Diallo M, Thonnon J, Traore-Lamizana M, Fontenille D. Vectors of Chikungunya virus in Senegal: current data and transmission cycles. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60(2):281–6.
- Pialoux G, Gaüzère B-A, Jauréguiberry S, Strobel M. Chikungunya, an epidemic arbovirology. *Lancet Infect Dis.* 2007;7(5):319–27.
- Brès P, Camicas JL, Cornet M, Robin Y, Taufflieb R. [Epidemiology of arbovirus diseases in Senegal]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* 1969;62(2):253–9.
- Peiris JS, Dittus WP, Ratnayake CB. Seroprevalence of dengue and other arboviruses in a natural population of toque macaques (*Macaca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. *J Med Primatol.* 1993;22(4):240–5.
- Anon. *Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections of Man and Domesticated Animals.* CABI; 2001:579.
- Parola P, de Lamballerie X, Jourdan J, Roveery C, Vaillant V, Minodier P, *et al.* Novel chikungunya virus variant in travelers returning from Indian Ocean islands. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(10):1493–9.
- Staples JE, Breiman RF, Powers AM. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clin Infect Dis* 2009;49(6):942–8.
- Richards SL, Ponnusamy L, Unnasch TR, Hassan HK, Apperson CS. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in relation to availability of human and domestic animals in suburban landscapes of central North Carolina. *J Med Entomol.* 2006;43(3):543–51.
- Richards SL, Anderson SL, Smartt CT. Vector competence of Florida mosquitoes for chikungunya virus. *J Vector Ecol.* 2010;35(2):439–43.
- Schwartz O, Albert ML. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nat Rev Microbiol* 2010;8(7):491–500.
- Dubrulle M, Mousson L, Moutailler S, Vazeille M, Failloux A-B. Chikungunya virus and *Aedes* mosquitoes: saliva is infectious as soon as two days after oral infection. *PLoS one.* 2009;4(6):e5895.
- Vega-Rúa A, Zouache K, Girod R, Failloux A-B, Lourenço-de-Oliveira R. High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. *J Virol.* 2014;88(11):6294–306.
- Vazeille M, Mousson L, Failloux A-B. Failure to demonstrate experimental vertical transmission of the epidemic strain of Chikungunya virus in *Aedes albopictus* from La Réunion Island, Indian Ocean. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104(4):632–5.
- Chahar HS, Bharaj P, Dar L, Guleria R, Kabra SK, Broor S. Co-infections with chikungunya virus and dengue virus in Delhi, India. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(7):1077–80.
- Vazeille M, Mousson L, Martin E, Failloux A-B. Orally co-infected *Aedes albopictus* from La Reunion Island, Indian Ocean, can deliver both dengue

- and chikungunya infectious viral particles in their saliva. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(6):e706.
38. Suhrbier A, Jaffar-Bandjee M-C, Gasque P. Arthritogenic alphaviruses—an overview. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(7):420–9.
 39. Dupuis-Maguiraga L, Noret M, Brun S, Le Grand R, Gras G, Roques P. Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(3):e1446.
 40. Couderc T, Chrétien F, Schilte C, Disson O, Brigitte M, Guivel-Benhassine F, *et al.* A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS Path.* 2008;4(2):e29.
 41. Wauquier N, Becquart P, Nkoghe D, Padilla C, Ndjoyi-Mbiguino A, Leroy EM. The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *J Inf Dis.* 2011;204(1):115–23.
 42. Jaffar-Bandjee MC, Das T, Hoarau JJ, Krejbich Trotot P, Denizot M, *et al.* Chikungunya virus takes centre stage in virally induced arthritis: possible cellular and molecular mechanisms to pathogenesis. *Microbes Infect.* 2009;11(14-15):1206–18.
 43. Burt FJ, Rolph MS, Rulli NE, Mahalingam S, Heise MT. Chikungunya: a re-emerging virus. *Lancet.* 2012;379(9816):662–71.
 44. Couderc T, Lecuit M. Focus on Chikungunya pathophysiology in human and animal models. *Microbes Infect.* 2009;11(14-15):1197–205.
 45. Waymouth HE, Zoutman DE, Towheed TE. Chikungunya-related arthritis: case report and review of the literature. *Semin ArthritisRheum.* 2013;43(2):273–8.
 46. Hoarau J-J, Jaffar Bandjee M-C, Krejbich Trotot P, Das T, Li-Pat-Yuen G, Dassa B, *et al.* Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *J Immunol.* 2010;184(10):5914–27.
 47. Hochedez P, Jaureguierry S, Debruyne M, Bossi P, Hausfater P, Brucker G, *et al.* Chikungunya infection in travelers. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(10):1565–7.
 48. Saxena SK, Singh M, Mishra N, Lakshmi V. Resurgence of chikungunya virus in India: an emerging threat. *Euro surveill.* 2006;11(8):E060810.2.
 49. Quatresous I. Chikungunya outbreak in Reunion, a French overseas department. *Euro surveill.* 2006;11(2):E060202.1.
 50. Brighton SW, Prozesky OW, de la Harpe AL. Chikungunya virus infection. A retrospective study of 107 cases. *S Afr Med J.* 1983;63(9):313–5.
 51. Kennedy AC, Fleming J, Solomon L. Chikungunya viral arthropathy: a clinical description. *The JRheumatol.* 1980;7(2):231–6.
 52. Ravi V. Re-emergence of chikungunya virus in India. *Indian JMed Microbiol.* 2006;24(2):83–4.
 53. Lebrun G, Chadda K, Reboux A-H, Martinet O, Gaüzère B-A. Guillain-Barré syndrome after chikungunya infection. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(3):495–6.
 54. Economopoulou A, Dominguez M, Helynck B, Sissoko D, Wichmann O, Quenel P, *et al.* Atypical Chikungunya virus infections: clinical manifestations, mortality and risk factors for severe disease during the 2005-2006 outbreak on Réunion. *Epidemiol Infect.* 2009;137(4):534–41.
 55. Weaver SC, Osorio JE, Livengood J a, Chen R, Stinchcomb DT. Chikungunya virus and prospects for a vaccine. *Expert Rev Vaccines.* 2012;11(9):1087–101.
 56. Panning M, Wichmann D, Grywna K, Annan A, Wijesinghe S, Kularatne SAM, *et al.* No evidence of chikungunya virus and antibodies shortly before the outbreak on Sri Lanka. *Med Microbiol Immunol.* 2009;198(2):103–6.
 57. Hasebe F, Parquet MC, Pandey BD, Mathenge EGM, Morita K, Balasubramaniam V, *et al.* Combined detection and genotyping of Chikungunya virus by a specific reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Med Virol.* 2002;67(3):370–4.
 58. Carletti F, Bordi L, Chiappini R, Ippolito G, Sciarrone MR, Capobianchi MR, Di Caro A, Castilletti C. Rapid detection and quantification of Chikungunya virus by a one-step reverse transcription polymerase chain reaction real-time assay. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77(3):521–4.
 59. Litzba N, Schuffenecker I, Zeller H, Drosten C, Emmerich P, Charrel R, *et al.* Evaluation of the first commercial chikungunya virus indirect immunofluorescence test. *J Virol Meth.* 2008;149(1):175–9.
 60. Blackburn NK, Besselaar TG, Gibson G. Antigenic relationship between chikungunya virus strains and o'nyong nyong virus using monoclonal antibodies. *Res Virol.* 146(1):69–73.
 61. Lee VJ, Lye DCB, Sun Y, Fernandez G, Ong A, Leo YS. Predictive value of simple clinical and laboratory variables for dengue hemorrhagic fever in adults. *J Clin Virol.* 2008;42(1):34–9.
 62. Ingram PR, Mahadevan M, Fisher DA. Dengue management: practical and safe hospital-based outpatient care. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009;103(2):203–5.
 63. Laoprasopwattana K, Kaewjungwad L, Jarumanokul R, Geater A. Differential diagnosis of Chikungunya, dengue viral infection and other acute febrile illnesses in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31(5):459–63.
 64. Taraphdar D, Sarkar A, Mukhopadhyay BB, Chatterjee S. A comparative study of clinical features between monotypic and dual infection cases with Chikungunya virus and dengue virus in West Bengal, India. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86(4):720–3.
 65. Lee VJ, Chow A, Zheng X, Carrasco LR, Cook AR, Lye DC, *et al.* Simple clinical and laboratory predictors of Chikungunya versus dengue infections in adults. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(9):e1786.
 66. Ravichandran R, Manian M. Ribavirin therapy for Chikungunya arthritis. *J Infect Dev Ctries.* 2008;2(2):140–2.
 67. Briolant S, Garin D, Scaramozzino N, Jouan A, Crance JM. In vitro inhibition of Chikungunya and Semliki Forest viruses replication by antiviral compounds: synergistic effect of interferon-alpha and ribavirin combination. *Antiviral Res.* 2004;61(2):111–7.
 68. Couderc T, Khandoudi N, Grandadam M, Visse C, Gangneux N, Bagot S, *et al.* Prophylaxis and therapy for Chikungunya virus infection. *J Inf Dis.* 2009;200(4):516–23.
 69. Edelman R, Tacket CO, Wasserman SS, Bodison SA, Perry JG, Mangiafico JA. Phase II safety and immunogenicity study of live chikungunya virus vaccine TSI-GSD-218. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62(6):681–5.
 70. Wang E, Kim DY, Weaver SC, Frolov I. Chimeric Chikungunya viruses are nonpathogenic in highly sensitive mouse models but efficiently induce a protective immune response. *J Virol.* 2011;85(17):9249–52.
 71. Sharma A, Gupta P, Maheshwari RK. Inactivation of Chikungunya virus by 1,5-iodonaphthyl azide. *Virol J.* 2012;9:301.
 72. Akahata W, Yang Z-Y, Andersen H, Sun S, Holdaway HA, Kong W-P, *et al.* A virus-like particle vaccine for epidemic Chikungunya virus protects nonhuman primates against infection. *Nat Med.* 2010;16(3):334–8.
 73. Mallilankaraman K, Shedlock DJ, Bao H, Kawalekar OU, Fagone P, Ramanathan AA, *et al.* A DNA vaccine against chikungunya virus is protective in mice and induces neutralizing antibodies in mice and nonhuman primates. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(1):e928.
 74. Cavrini F, Gaibani P, Pierro AM, Rossini G, Landini MP, Sambri V. Chikungunya: an emerging and spreading arthropod-borne viral disease. *J Infect Dev Ctries.* 2009;3(10):744–52.
 75. Calderón-Arguedas Ó, Avendaño A, López-Sánchez W, Troyo A. Expansion of *Aedes albopictus* skull in Costa Rica. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol.* 2010;69:220–222.
 76. Calderón Arguedas O, Troyo A, Avendaño A, Gutiérrez M. *Aedes albopictus* (Skuse) in the Huetar Atlantic Region of Costa Rica. *Rev Costarric Salud Pública.* 2012;21(2):76–80.
 77. Mena N, Troyo A, Bonilla-Carrión R, Calderón-Arguedas Ó. Factores asociados con la incidencia de dengue en Costa Rica. *Rev Panam Salud Pública.* 2011;29(4):234–242.