

Infección grave por el virus del Chikungunya

Severe Chikungunya virus infection

Susana Ferreira-Sarmiento¹, Katya P. Lastra-Terán²,
Dereck de la Rosa³, Diego Viasus⁴

Resumen

Publicaciones recientes han desafiado la visión convencional sobre la naturaleza benigna de la infección por el virus de Chikungunya (VCHIK). Las manifestaciones clínicas son muy variables y pueden ser graves en algunos casos. Los estudios sugieren que la forma grave de la infección por el VCHIK puede ser asociada con disfunción orgánica múltiple, hepatitis, meningitis, nefritis, encefalitis, dermatitis ampollosa, miocarditis, arritmias cardíacas, entre otras. La fisiopatología subyacente para algunas de las complicaciones de la enfermedad por el VCHIK sigue siendo poco clara. Sin embargo, de acuerdo con las características clínicas de los casos graves o atípicos descritos a la fecha, el desarrollo de complicaciones podría agruparse principalmente en tres categorías: la exacerbación de condiciones médicas subyacentes, el deterioro de un trastorno no reconocido previamente y la respuesta inmunológica inadecuada a la infección. Se ha encontrado asociación entre las manifestaciones graves de la infección, niveles elevados de citoquinas y algunas secuencias genómicas específicas del VCHIK. La inmunoterapia pasiva puede constituir una estrategia eficaz en el tratamiento de individuos expuestos al VCHIK con riesgo de infección grave. Actualmente no existe evidencia clínica que soporte el uso de antivirales en la prevención o tratamiento de la infección por el VCHIK.

Palabras clave: Chikungunya, gravedad, mortalidad, biomarcadores, tratamiento.

Abstract

Recent publications have challenged the conventional view of the benign nature of the Chikungunya virus (CHIKV) infection. The clinical manifestations are highly variable and can be severe in some cases. Studies suggest that the severe form of CHIKV infection may be associated with multiple organ failure, hepatitis, meningitis, nephritis, encephalitis, bullous dermatitis, myocarditis, cardiac arrhythmias, among others. The underlying pathophysiology for some of these complications remains unclear. However, according to the clinical characteristics of severe or atypical cases reported to date, the development of complications could be grouped into three main categories, such as exacerbation of underlying medical

Fecha de recepción: 24 de agosto de 2015
Fecha de aceptación: 5 de octubre de 2015

¹⁻³ Facultad de Medicina, Universidad del Norte y Departamento de Medicina Interna, Hospital Universidad del Norte. Barranquilla (Colombia).

⁴ MD; MSc, Ph.D. Facultad de Medicina, Universidad del Norte y Departamento de Medicina Interna, Hospital Universidad del Norte. Barranquilla (Colombia).

Correspondencia: Diego Viasus. Facultad de Medicina, Universidad del Norte, km 5, vía a Puerto Colombia. Barranquilla (Colombia). Teléfono: +57 3135482041. dviasus@uninorte.edu.co

conditions, deterioration of a previously unrecognized condition and inadequate immune response to infection. Some studies have found association between severe manifestations of infection and high levels of cytokines or some specific genomic sequences CHIKV. Experimental studies suggest that passive immunotherapy can be an effective strategy for the management of individuals at risk of severe CHIKV infection. Currently there is no clinical evidence to support antiviral drug use in the prevention or treatment of the disease.

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de Chikungunya (VCHIK) ha sido documentada en África, Asia y recientemente en las Américas. Además, se han reportado brotes y casos importados en varios países europeos y Estados Unidos.

La infección por el VCHIK es una enfermedad viral que puede causar una importante morbilidad. En general, es una enfermedad aguda cuyos signos y síntomas principales incluyen fiebre de inicio súbito, erupciones en la piel y una artralgia dolorosa e incapacitante (1). Sin embargo, las manifestaciones clínicas son muy variables y pueden ser graves en algunos casos.

Aunque la infección por Chikungunya se está convirtiendo en un problema importante de salud pública en muchos países, no se la considera una enfermedad que amenaza la vida.

Recientemente numerosas publicaciones y series de casos sobre los brotes que ocurrieron en Isla Reunión y en la India han desafiado la visión convencional sobre la naturaleza benigna de esta infección (1). Los casos publicados sugieren que la forma grave o atípica de la infección por el VCHIK puede ser asociada con disfunción orgánica múltiple, hepatitis, meningitis, nefritis, encefalitis, dermatitis ampollosa, miocarditis y arritmias cardíacas (2-4). En la mayoría de estudios en los que se han documentado formas graves, el diag-

nóstico de la enfermedad se hizo basado en la historia clínica detallada y en anticuerpos IgM positivos contra el virus (5). Además, otras etiologías infecciosas, tales como VIH, *Campylobacter jejuni*, citomegalovirus, *Mycoplasma pneumoniae*, virus de Epstein-Barr, virus del dengue y *Chlamydia pneumoniae*, fueron excluidas con pruebas serológicas (2, 3, 5, 6).

Entre 2005-2006 se presentó un brote en Isla Reunión (territorio francés en el océano Índico), que afectó cerca de 260 000 personas. La incidencia de casos graves o atípicos fue 112/100 000 habitantes (7). Además, se reportaron 237 muertes asociadas a la infección por el VCHIK (8). Aunque la proporción global de los casos atípicos y graves fue baja, la mortalidad en estos casos fue sorprendentemente alta (2). Por otro lado, durante el brote ocurrido en 2006 en Ahmedabad (India), la forma grave de la infección por el VCHIK se documentó en el 72.2 % de los pacientes que requirieron hospitalización (9).

Las características clínicas y los factores de riesgo que predisponen a las formas más graves de la enfermedad aún están por conocerse por completo.

En este artículo se realiza una revisión de las manifestaciones clínicas, pronóstico y tratamiento de la infección grave por el VCHIK.

MÉTODOS

Los artículos para esta revisión se identificaron mediante una búsqueda en la base de datos PubMed. Se revisaron artículos en español y en inglés publicados hasta febrero de 2015. Las palabras utilizadas en la búsqueda fueron "Chikungunya", "casos atípicos", "complicaciones", "enfermedad grave", "unidad de cuidados intensivos", "interleuquina", "tratamiento" y "mortalidad". La bibliografía de los artículos encontrados fue revisada para localizar artículos adicionales.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD GRAVE

Las complicaciones neurológicas representan cerca del 25 % de las manifestaciones atípicas en pacientes con infección por el VCHIK (2). La encefalitis parece ser la manifestación neurológica más común. Su incidencia oscila entre 11 y 18 %. También se han reportado casos de síndrome de Guillain-Barre, convulsiones, síndrome cerebeloso, neuropatías, oftalmoplejías, neuritis óptica y hemorragias subaracnoideas (2, 4, 10).

En una serie de casos de pacientes entre 12 a 84 años de edad con enfermedad por el VCHIK ocurridos en Rajasthan (India) se encontró que el 33 % de los pacientes presentó manifestaciones neurológicas (5). El inicio de las manifestaciones neurológicas fue de aparición temprana, a partir del segundo o tercer día de la enfermedad. En las pruebas diagnósticas realizadas, los cambios en el electroencefalograma fueron inespecíficos.

En otros estudios en pacientes con manifestaciones neurológicas, los hallazgos en las neuroimágenes se han descrito como lesiones en la sustancia blanca frontoparietal bilaterales y señales tempranas de encefalitis (11). Sin embargo, otros estudios han reportado tanto

en la tomografía computarizada como en la resonancia magnética cambios inespecíficos o normales (3).

Por otra parte, en algunos reportes en los que se ha realizado punción lumbar a pacientes con complicaciones neurológicas por el VCHIK, los hallazgos en líquido cefalorraquídeo fueron similares a los observados en otras encefalitis virales (2).

Recientemente las complicaciones neurológicas se han atribuido a la mutación puntual E1:A226V en el VCHIK (12). Sin embargo, sigue siendo incierto si los síntomas neurológicos son el resultado de la replicación viral en sistema nervioso central o la respuesta inmunitaria del huésped (5).

Las complicaciones cardiovasculares de la infección por el VCHIK son raras (5), pero han sido descritas desde la década de los 70 (13). En el brote ocurrido en Isla Reunión, el 13% de los casos atípicos presentó como complicación insuficiencia cardíaca durante la fase aguda de la enfermedad. La mitad de ellos tenía enfermedad cardíaca subyacente. Del mismo modo, en este estudio, el 7 % de los pacientes presentó arritmias y menos del 1 % tuvo un infarto agudo de miocardio (7).

Por otra parte, la miocarditis es una de las complicaciones cardiovasculares más frecuentemente reportadas (5). En un estudio, también realizado en Isla Reunión, en el que se evaluaron pacientes que presentaron miocarditis, los hallazgos histopatológicos descritos fueron necrosis y degeneración del miocardio, incluyendo vacuolización de los miocitos (3).

La complicación renal predominante en la forma atípica de la infección por el VCHIK

es la falla renal aguda de origen prerrenal. De forma característica, los pacientes con esta complicación tenían con mayor frecuencia enfermedad renal crónica preexistente (5).

Por otra parte, también se ha descrito un caso de síndrome nefrítico durante una epidemia de infección por el VCHIK en Delhi. Los síntomas de edema facial y en miembros inferiores, dolor abdominal y hematuria macroscópica ocurrieron en un paciente sin antecedentes de enfermedad renal previa (14).

Las complicaciones oculares también han sido descritas en la infección por el VCHIK (2). En una serie de casos de 19 pacientes con estas complicaciones, 8 (42 %) presentaron neuritis óptica, 4 (21 %) tenían papilitis, 4 (21%) neurorretinitis y 3 (16 %) presentaron neuritis retrobulbar. La sintomatología incluía visión borrosa, disminución de la agudeza visual y defectos en el campo visual. Todos los pacientes fueron tratados con corticosteroides con mejoría parcial o completa de la visión en el 71 % de los casos.

El mecanismo exacto de la neuritis es desconocido. Se ha planteado la posibilidad de que ocurra por daño directo del virus o sea mediado por la respuesta inmune (15).

Finalmente, se ha documentado dermatitis ampollosa como forma grave de presentación de la enfermedad (5). También se han descritos casos de hepatitis fulminante (3). Otros estudios han documentado disfunción orgánica múltiple como causa de mortalidad en pacientes con infección por el VCHIK (7). Las complicaciones hemorrágicas han sido descritas en algunos reportes (7).

Factores de riesgo para enfermedad grave

La incidencia de casos atípicos y graves, las hospitalizaciones y la mortalidad asociada al VCHIK aumentan con la edad (2). Los pacientes con enfermedades respiratorias y cardíacas subyacentes también presentan con mayor frecuencia peor pronóstico (2). Pero es importante tener en cuenta que complicaciones cardiovasculares, como arritmias, miocarditis, pericarditis, infarto de miocardio, y trastornos neurológicos, incluyendo la encefalitis y meningoencefalitis, también se han descrito en pacientes previamente sanos (3, 7).

El abuso de alcohol se ha asociado con aumento de la mortalidad. Igualmente, el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) antes de la hospitalización se ha relacionado con el desarrollo de complicaciones. Por otra parte, los reportes de casos han encontrado asociación entre pacientes inmunocomprometidos y el desarrollo de manifestaciones atípicas; pero a la fecha ningún estudio ha comparado pacientes inmunocomprometidos con inmunocompetentes (7).

La mayoría de pacientes inmunocomprometidos descritos en estudios previos presentaba infecciones nosocomiales y no se pudo atribuir mortalidad directamente a la infección por el VCHIK (16). Algunos autores consideran que se requieren más estudios prospectivos para determinar el impacto de la infección VCHIK en pacientes inmunosuprimidos (16).

La diabetes mellitus no se ha documentado como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad grave o muerte, a pesar de ser una comorbilidad frecuente encontrada entre los pacientes con infección por el VCHIK. Del mismo modo, el género femenino no ha

sido claramente vinculado a la gravedad de la enfermedad (7).

La asociación entre carga viral y enfermedad grave aguda es controvertida. Varios estudios documentaron una mayor carga viral en pacientes hospitalizados o con enfermedades graves (5). Por el contrario, otros estudios no encontraron asociación significativa entre la carga viral y la presentación clínica (2).

Otros biomarcadores que se han asociado con la gravedad de la enfermedad son niveles séricos elevados de transaminasas, creatinina, proteína C reactiva, hipocalcemia, elevación en las concentraciones sanguíneas de interleuquina (IL)-1b e IL-6 y otros biomarcadores (2).

FISIOPATOLOGÍA

La fisiopatología subyacente para algunas de las complicaciones de la enfermedad por el VCHIK sigue siendo poco clara. Sin embargo, de acuerdo con las características clínicas de los casos atípicos descritos a la fecha, el desarrollo de complicaciones podría agruparse principalmente en tres categorías: la exacerbación de condiciones médicas subyacentes, el deterioro de un trastorno no reconocido previamente y la respuesta inmunológica inadecuada a la infección (2).

En líneas generales, tras la inoculación del virus por la picadura del mosquito, el VCHIK se replica en las células epiteliales y endoteliales de muchos órganos, incluyendo el hígado, el bazo y el cerebro, en los fibroblastos y en menor medida en los macrófagos. Igual que otros alfavirus, VCHIK es altamente citopático, y células infectadas experimentan rápidamente apoptosis (17).

En los seres humanos, la fase aguda cursa con altos niveles de interferón (IFN)- α , lo que implica una fuerte inmunidad innata, junto con la producción tardía de IL-4, IL10, IFN- γ y anticuerpos, lo cual sugiere la participación de la inmunidad adaptativa (17).

Se sabe muy poco sobre el papel de los linfocitos durante la patogénesis de la enfermedad.

Un efecto notable de la infección por el VCHIK es la linfopenia aguda. Sin embargo, los linfocitos B y los linfocitos T no son susceptibles a la infección por el VCHIK *in vitro* (17). Por tanto, es probable que la linfopenia no sea un efecto directo del virus sobre los linfocitos. En lugar de ello, es posible que el IFN induzca la muerte celular en los linfocitos, o que ocurra la migración de linfocitos de la sangre a los tejidos, como lo hacen en otras infecciones agudas (17).

Un estudio realizado en Singapur puso de manifiesto que una amplia gama de citoquinas, tales como IFN- α , IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-15, era producida en respuesta a la infección por el VCHIK. Los niveles de 8 citoquinas plasmáticas (IL-2R, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-15 e IFN- α) se encontraban significativamente elevados en la forma grave de la enfermedad por VCHIK en comparación con los sujetos no infectados, y la IL-6, que era la más elevada. Los niveles de otras citoquinas, tales como IL-2, IL-4, IL-12, IL-13, IL-17, IFN- γ , y TNF- α , se aumentaron solo marginalmente. Dicho estudio también informó que la elevación de IL-1 β y RANTES se asociaba a gravedad de la enfermedad, mientras que el MCP-1, eotaxina, IFN- γ y TNF- α no parecen tener ningún papel en la infección. Según los autores, esto sugiere un perfil antiinflamatorio (18).

En un estudio realizado en Italia se encontró que las citoquinas CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, IL-6 y CXCL10/IP-10 aumentaban de forma significativa en la fase aguda de la enfermedad en comparación con fases posteriores (6). Además, IL-1 β , TNF- α , IL-12, IL-10, IFN- γ e IL-5 tenían niveles bajos en la fase aguda pero aumentaron significativamente en fases posteriores. De forma importante, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 y los niveles de inmunoglobulina (Ig) G mostraron asociación con la gravedad de la enfermedad (6).

En otro estudio realizado en Tailandia se encontró asociación entre los niveles de IL-6 con la gravedad de la infección (19). Los autores han considerado que la inactivación de IL-6 puede servir como una estrategia terapéutica para mejorar el pronóstico de los pacientes con formas graves de infección por el VCHK. Por otra parte, en un estudio que evaluó los perfiles inmunológicos de pacientes con infección por el VCHK se documentó que un aumento en los niveles de IL-1b e IL-6 y una disminución en RANTES fueron asociados con la gravedad de la enfermedad (18).

En otro estudio se encontró que la respuesta inadecuada en la producción de IFN- α/β después de la infección por el VCHK puede ser suficiente para inducir complicaciones hemorrágicas y choque (20).

También se ha encontrado asociación entre las manifestaciones graves de la infección y algunas secuencias genómicas específicas del virus Chikungunya (21).

La adquisición de la mutación A226V en la proteína E1 de la envoltura del VCHK, que mejoró la adaptabilidad del virus a un nuevo vector, el *A. albopictus*, también se ha relacionado con una mayor gravedad de la

enfermedad (10). La supresión de la respuesta inmune del huésped por el virus con esta mutación es apoyada por la alta expresión de IL-10, que es un antiinflamatorio que inhibe la acción de las células Th1 y natural killer. De este modo, disminuye la presentación de antígenos y limita la producción de diversas citoquinas (22).

Por otra parte, en diversos estudios en pacientes con complicaciones neurológicas por el VCHK se ha encontrado que el virus parece infectar las células del estroma del sistema nervioso central y, en particular, el revestimiento del plexo coroideo (17). En contraste, en las células de la microglía, los astrocitos y células endoteliales microvasculares no se identificó el virus (19).

Otros estudios han encontrado el virus en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con infección aguda por el VCHK. Sin embargo, este hallazgo no se ha relacionado claramente con manifestaciones clínicas.

TRATAMIENTO

Actualmente no existe evidencia clínica que soporte el uso de antivirales en la prevención o tratamiento de infecciones por el VCHK (8). Sin embargo, en estudios *in vitro* varios fármacos han demostrado ser eficaces contra el virus de VCHK (2).

Algunos estudios han documentado que podrían ser útiles en el manejo de la artritis en pacientes con infección aguda por el VCHK.

En un estudio de 20 pacientes con infección por VCHK se encontró que la ribavirina, administrada 200 mg dos veces al día, favorecía la resolución de la inflamación de articulaciones y tejidos blandos. En el 80 % de los pacientes

hubo reducción en signos inflamatorios. Los autores concluyen que la ribavirina puede tener actividad antiviral directa contra el VCHIK, lo que conduce a una resolución más rápida de la enfermedad (23).

Por otra parte, también se ha informado de un efecto sinérgico entre la ribavirina y el INF- α (2,8). Sin embargo, las indicaciones, la dosis y duración del tratamiento no se han establecido.

Se requieren estudios para establecer el papel de la ribavirina en la fase aguda de la enfermedad.

Se ha documentado que la cloroquina e hidroxicloroquina pueden afectar la replicación de varios virus mediante la interferencia en la entrada viral endosomal o en la replicación de los virus (2).

Un estudio evaluó el efecto de estos medicamentos en 11 pacientes con artritis crónica por VCHIK. Los pacientes completaron 20 semanas de terapia con fosfato de cloroquina 250 mg/día. Según la evolución médica, 5 pacientes mejoraron, 1 se deterioró y 4 no presentaron cambios. Uno de los pacientes se retiró a la semana 8 de tratamiento por cefalea persistente, sin embargo, afirmó que los dolores articulares habían desaparecido (24).

En otro estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, 27 pacientes con infección aguda por el VCHIK recibieron cloroquina y 27 recibieron un tratamiento placebo durante 5 días. El tratamiento con cloroquina consistió en 600 mg al día 1, 600 mg en los días 2 y 3 y 300 mg en los días 4 y 5. No se encontró diferencias significativas entre los grupos.

Por otra parte, se ha sugerido que la cloroquina podría aumentar la replicación de los virus y agravar la enfermedad (8). Teniendo en cuenta lo anterior, algunos autores consideran que actualmente no existe justificación para el uso de cloroquina en la fase aguda de la infección por el VCHIK (25).

Entre algunos compuestos antivirales que inhiben la replicación del VCHIK se encuentran la cumarina, arbidol y harringtone (8). Sin embargo, ninguno de ellos está disponible para el tratamiento de los pacientes con infección por el VCHIK.

La inmunoterapia pasiva se ha utilizado durante más de un siglo en el tratamiento de las enfermedades infecciosas virales. La misma puede ser una estrategia eficaz para la prevención y tratamiento de individuos expuestos al VCHIK con riesgo de infección grave, como recién nacidos de madres con viremia y adultos con comorbilidades (2).

Múltiples estudios han encontrado que los anticuerpos monoclonales desarrollados frente a diversas proteínas virales tienen potencial terapéutico contra el VCHIK (26-31).

En un estudio fueron purificadas inmunoglobulinas polivalentes humanas a partir de muestras de plasma obtenidas de donantes en la fase de convalecencia de la infección por el VCHIK. Los efectos preventivos y curativos de estas inmunoglobulinas se investigaron en 2 modelos de ratón de infección por el VCHIK. Los anticuerpos anti-VCHIK presentaron actividad neutralizante *in vitro* y eficacia profiláctica y terapéutica contra la infección VCHIK *in vivo* (32).

En otro estudio realizado en 98 muestras de suero recogidas de pacientes durante el

brote de 2008-2009 de VCHIK en Tailandia se documentó que las muestras tenían actividad neutralizante. No se encontró asociación entre el virus y los títulos de anticuerpos y la presencia de síntomas típicos de la infección VCHIK, como fiebre y dolor en las articulaciones. Este estudio indica que aunque el anticuerpo neutralizante es crítico para eliminar VCHIK, no parece ser el principal factor asociado con los síntomas clínicos, de modo que otros aspectos de la respuesta inmune, tales como mediadores proinflamatorios, deben ser considerados en conjunto (33).

El IFN es capaz de evitar las infecciones de virus en ausencia de la inmunidad adaptativa. La aplicación más importante de esta terapia se presenta para tratamiento antiviral de fases crónicas de infecciones virales (1).

En estudios recientes experimentales, llevados a cabo en ratones, se encontró que el tratamiento con IFN disminuye la carga viral y citoquinas inflamatorias y previene la artritis por el VCHIK si se administra antes de la infección. La administración posterior a la infección no evidenció utilidad. Dado que una situación de este tipo no existiría en la mayoría de los casos de infección humana, IFN no resulta útil para la terapia (2, 34).

Se han realizado varios estudios con el objetivo de desarrollar y evaluar una vacuna contra el VCHIK. Recientemente se ha reportado un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo que evaluó la inmunogenicidad de una vacuna viva recombinante contra el VCHIK, derivada de la modificación del virus del sarampión. Se reclutaron 42 hombres y mujeres sanos de 18 a 45 años de edad. La vacuna generó anticuerpos neutralizantes en todos los participantes, con tasas de seroconversión 44 %-92 % según la dosis administrada. Una segunda dosis de vacuna resultó

en una seroconversión del 100 % para todos los participantes. No se registraron efectos adversos graves relacionados con la vacunación. Los autores han considerado que esta vacuna contra el VCHIK presenta una buena inmunogenicidad y seguridad (35).

En otro estudio, 25 voluntarios sanos recibieron una vacuna de pseudopartículas virales (VLP) del VCHIK en diferentes dosis. Los investigadores encontraron que la vacuna fue globalmente bien tolerada y que la mayor parte de los voluntarios desarrollaron una respuesta inmunológica que persistió hasta meses después de la administración (36).

Otros estudios han evaluado una vacuna basada en una versión atenuada del virus Vaccinia Modificado de Ankara en cuya secuencia genética se han insertado genes del VCHIK. Según estos estudios realizados en animales y en sangre de donantes sanos, la vacuna genera niveles significativos de anticuerpos neutralizantes contra el VCHIK y protege de la viremia, la inflamación articular y la mortalidad (37, 38).

Estudios experimentales en animales han evaluado otros múltiples candidatos de vacuna contra el VCHIK y han reportado resultados prometedores (39-42).

CONCLUSIONES

Las manifestaciones clínicas de la infección por el VCHIK son muy variables y pueden ser graves en algunos casos. Algunos factores del huésped se han asociado a un mayor riesgo de complicaciones. Sin embargo, las manifestaciones atípicas se pueden presentar incluso en personas previamente sanas.

La morbimortalidad relacionada con la infección grave por el VCHIK es elevada.

Información acerca de la fisiopatología de la enfermedad grave está aún por definir. Del mismo modo, es necesario el desarrollo de estrategias específicas de tratamiento.

Conflicto de intereses: ninguno.

Financiación: Agenda Interna de Investigación (DViasus), Universidad del Norte.

REFERENCIAS

1. Chua HH, Abdul Rashid K, Law WC, Hamizah A, Chem YK, Khairul AH, Chua KB et al. A Fatal Case of Chikungunya Virus Infection with Liver Involvement. *Med J Malaysia* 2010;65(1):83-4.
2. Thiberville SD, Moyon N, Dupuis-Maguiraga L, Nougairede A, Gould EA, Roques P. Chikungunya fever: epidemiology clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Res* 2013;99(3):345-70. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.06.009
3. Lemant J, Boisson V, Winer A, Thibault L, André H, Tixier F et al. Serious acute chikungunya virus infection requiring intensive care during the Reunion Island outbreak in 2005-2006. *Crit Care Med* 2008;36(9):2536-41.
4. Farnon EC, Sejvar JJ, Staples JE. Severe disease manifestations associated with acute chikungunya virus infection. *Crit Care Med* 2008;36(9): 2682-3.
5. Rajapakse S, Rodrigo C, Rajapakse A. Atypical manifestations of chikungunya infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010;104:89-96. DOI: 10.1016/j.trstmh.2009.07.031
6. Kelvin AA, Banner D, Silvi G, Moro ML, Spataro N, Gaibani P et al. Inflammatory cytokine expression is associated with chikungunya virus resolution and symptom severity. *PLoS Negl Trop Dis* 2011 Aug;5(8):e1279.
7. Economopoulou A, Dominguez M, Helynck B, Sissoko D, Wichmann O, Quenel P, Germonneau P, Quatresous 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. DOI: 10.1017/S0950268808001167
8. Bettadapura J, Herrero LJ, Taylor A, Mahalingam S. Approaches to the treatment of disease induced by chikungunya virus. *Indian J Med Res* 2013;138(5):762-5.
9. Tandale BV, Sathe PS, Arankalle VA, Wadia RS, Kulkarni R et al. Systemic involvements and fatalities during Chikungunya epidemic in India, 2006 *J Clin Virol* 2009 Oct;46(2):145-9.
10. Priya R, Dhanwani R, Patro IK, Rao PV, Parida MM. Differential regulation of TLR mediated innate immune response of mouse neuronal cells following infection with novel ECSA genotype of Chikungunya virus with and without E1:A226V mutation. *Infect Genet Evol* 2013 Dec;20:396-406. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.09.030
11. Ganesan K, Diwan A, Shankar SK, Desai SB, Sainani GS, Katrak SM. Chikungunya encephalomyeloradiculitis: report of 2 cases with neuroimaging and 1 case with autopsy findings. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008 Oct;29(9):1636-7.
12. Schuffenecker II, Itean I, Michault A, Murri S, Frangeul L, Vaney MC, Lavenir R, Pardigon N et al. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *PLoS Med*. 2006 Jul;3(7):e263.
13. Obeyesekere I, Hermon Y. Arbovirus heart disease: myocarditis and cardiomyopathy following dengue and chikungunya fever—a follow-up study *Am Heart J* 1973 ;85(2):186-94.
14. Solanki BS, Arya SC, Maheshwari P. Chikungunya disease with nephritic presentation. *Int J Clin Pract* 2007;61:1941.
15. Mittal A, Mittal S, Bharati MJ, Ramakrishnan R, Saravanan S, Sathe PS. Optic neuritis associated with chikungunya virus infection in South India. *Arch Ophthalmol* 2007;125:1381-6.
16. Kee AC, Yang S, Tambyah P. Atypical chikungunya virus infections in immunocompromised patients. *Emerg Infect Dis* 2010 16(6):1038-40. DOI: 10.3201/eid1606.091115

17. Schwartz O, Albert ML. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nat Rev Microbiol* 2010;8(7):491-500. DOI: 10.1038/nrmicro2368
18. Ng LF, Chow A, Sun YJ, Kwek DJ, Lim PL, Dimatatac F et al. IL-1beta, IL-6, and RANTES as biomarkers of Chikungunya severity. *PLoS One* 2009;4(1):e4261. DOI: 10.1371.
19. Lohachanakul J, Phuklia W, Thannagith M, Thonsakulprasert T, Ubol S. High concentrations of circulating interleukin-6 and monocyte chemotactic protein-1 with low concentrations of interleukin-8 were associated with severe chikungunya fever during the 2009-2010 outbreak in Thailand. *Microbiol Immunol* 2012 ;56(2):134-8. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2011.00417.x
20. Rudd PA, Wilson J, Gardner J, Larcher T, Barbarit C, Le TT, Anraku I et al. Interferon response factors 3 and 7 protect against Chikungunya virus hemorrhagic fever and shock. *J Virol* 2012 ;86(18):9888-98. DOI: 10.1128/JVI.00956-12.
21. Mavalankar D1, Shastri P, Bandyopadhyay T, Parmar J, Ramani KV. Increased mortality rate associated with chikungunya epidemic, Ahmedabad, India. *Emerg Infect Dis* 2008;14(3):412-5.
22. Pal P, Fox JM, Hawman DW, Huang YJ, Messaoudi I, Kreklywich C. Chikungunya viruses that escape monoclonal antibody therapy are clinically attenuated, stable, and not purified in mosquitoes. *J Virol* 2014; 88(15):8213-26. DOI: 10.1128/JVI.01032-14
23. Ravichandran R1, Manian M. Ribavirin therapy for Chikungunya arthritis. *J Infect Dev Ctries* 2008, 1;2(2):140-2.
24. Brighton SW. Chloroquine phosphate treatment of chronic Chikungunya arthritis. An open pilot study. *S Afr Med J* 1984 Aug 11;66(6):217-8.
25. De Lamballerie X, Boisson V, Reynier JC, Enault S, Charrel RN, Flahault A. On chikungunya acute infection and chloroquine treatment. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8(6):837-9.
26. Masrinoul P, Puiprom O, Tanaka A, Kuwahara M, Chaichana P, Ikuta K Monoclonal antibody targeting chikungunya virus envelope 1 protein inhibits virus release. *Virology* 2014 ;464-465:111-7. DOI: 10.1016/j.virol.2014.05.038
27. Goh LY, Hobson-Peters J, Prow NA, Gardner J, Bielefeldt-Ohmann H, Pyke AT et al. Neutralizing monoclonal antibodies to the E2 protein of chikungunya virus protects against disease in a mouse model. *Clin Immunol* 2013 ;149(3):487-97. DOI: 10.1016/j.clim.2013.10.004
28. Hawman DW, Stoermer KA, Montgomery SA, Pal P, Oko L, Diamond MS, Morrison TE. Chronic joint disease caused by persistent Chikungunya virus infection is controlled by the adaptive immune response. *J Virol* 2013;87(24):13878-88. DOI: 10.1128/JVI.02666-13
29. Selvarajah S1, Sexton NR, Kahle KM. A neutralizing monoclonal antibody targeting the acid-sensitive region in chikungunya virus E2 protects from disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2013, 12;7(9):e2423. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002423
30. Pal P, Dowd KA, Brien JD. Development of a highly protective combination monoclonal antibody therapy against Chikungunya virus. *PLoS Pathog* 2013;9(4):e1003312. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003312>
31. Fric J, Bertin-Maghit S, Wang CI Use of human monoclonal antibodies to treat Chikungunya virus infection. *J Infect Dis* 2013 , 15;207(2):319-22. DOI: 10.1093/infdis/jis674
32. Couderc T, Khandoudi N, Grandadam M Prophylaxis and therapy for Chikungunya virus infection. *J Infect Dis* 2009 15;200(4):516-23.
33. Kishishita N, Sasayama M, Takeda N, Sangasang A, Anuegoonpipat A, Anantapreecha S. Neutralization Activity of Patient Sera Collected during the 2008-2009 Chikungunya Outbreak in Thailand. *J Clin Microbiol* 2015;53(1):184-90.
34. Dagley A, Ennis J, Turner JD, Rood KA, Van Wettere AJ, Gowen BB, Julander JG. Protec-

- tion against Chikungunya virus induced arthralgia following prophylactic treatment with adenovirus vectored interferon (mDEF201) *Antiviral Res* 2014; 108:1-9. DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.05.004
35. Ramsauer K, Schwameis M, Firbas C, Müllner M, Putnak RJ, Thomas SJ et al. Immunogenicity, safety, and tolerability of a recombinant measles-virus-based chikungunya vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active-comparator, first-in-man trial. *Lancet Infect Dis* 2015 pii: S1473-3099(15)70043-5.
 36. Chang LJ, Dowd KA, Mendoza FH, Saunders JG, Sitar S, Plummer SH et al. Safety and tolerability of chikungunya virus-like particle vaccine in healthy adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2014 6;384(9959):2046-52. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61185-5
 37. García-Arriaza J, Cepeda V, Hallengård D, Sorzano CO, Kümmerer BM, Liljeström P, Esteban M. A novel poxvirus-based vaccine, MVA-CHIKV, is highly immunogenic and protects mice against chikungunya infection. *J Virol* 2014;88(6):3527-47. DOI: 10.1128/JVI.03418-13
 38. Weger-Lucarelli J, Chu H, Aliota MT, Partidos CD, Osorio JE. A novel MVA vectored Chikungunya virus vaccine elicits protective immunity in mice. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(7): e2970. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002970
 39. Tretyakova I, Hearn J, Wang E, Weaver S, Pushko P. DNA vaccine initiates replication of live attenuated chikungunya virus in vitro and elicits protective immune response in mice. *J Infect Dis* 2014;209(12):1882-90. DOI: 10.1093/infdis/jiu114
 40. Hallengård D, Kakoulidou M, Lulla A, Kümmerer BM, Johansson DX, Mutso M, Novel attenuated Chikungunya vaccine candidates elicit protective immunity in C57BL/6 mice. *J Virol* 2014;88(5):2858-66. DOI: 10.1128/JVI.03453-13
 41. Brandler S1, Ruffié C, Combredet C, Brault JB, Najburg V, Prevost MC. A recombinant measles vaccine expressing chikungunya virus-like particles is strongly immunogenic and protects mice from lethal challenge with chikungunya virus. *Vaccine* 2013;31(36):3718-25. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.05.086
 42. Akahata W, Yang ZY, Andersen H, Sun S, Holdaway HA, Kong WP. A virus-like particle vaccine for epidemic Chikungunya virus protects nonhuman primates against infection. *Nat Med* 2010;16(3):334-8. DOI: 10.1038/nm.2105