



VIRUS TROPICALES EMERGENTES: ZIKA, DENGUE Y CHIKUNGUNYA, UNA REVISIÓN ENFOCADA EN INMUNOLOGÍA Y EL DESARROLLO DE VACUNAS.

EMERGING TROPICAL VIRUSES: ZIKA, DENGUE AND CHIKUNGUNYA, A REVIEW FOCUSED ON IMMUNOLOGY AND VACCINE DEVELOPMENT.

Fernando Valdivieso Rivera¹; Ricardo Palma Patiño²; María Peña Carillo¹; Leny Tacuri Ramón¹; Michelle Pazmiño Viteri¹; Antonio Vera Palacios¹; Yeimy Rojas de Hidalgo^{1*}

⁽¹⁾ Universidad Regional Amazónica Ikiam, Grupo de Microbiología Aplicada, Tena - Ecuador.

⁽²⁾ Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil – Ecuador.

Email: yeimymrojass@gmail.com

<https://doi.org/10.33789/talentos.9.2.168>

Resumen: La presente revisión detalla los mecanismos de virulencia de tres virus tropicales emergentes: Zika, dengue y chikungunya, y los asocia, enlaza o vincula con el desarrollo de la respuesta inmune del hospedador ante cada uno de estos, para posteriormente mostrar los avances tecnológicos y las dificultades a las que se enfrentan los estudios de vacunas contra dichos virus. Además, se mencionan los principales países involucrados activamente en las diferentes fases de investigación de vacunas, refiriéndose adicionalmente, a las dificultades que tienen los países más afectados por estas infecciones para participar en el desarrollo de vacunas que puedan implementarse y mejorar la calidad de vida de la población.

Palabras clave: Infección, respuesta inmune, tecnología, virulencia, virus tropicales.

Abstract: The present review details the mechanisms of virulence of three emerging tropical viruses: Zika, dengue and chikungunya and link them with the development of the host's immune response showing the technological advances and the difficulties that these vaccines studies face against these viruses. In addition, the main countries actively involved in the different

Recibido: 31 de marzo de 2022

Online: 30 de agosto de 2022

Publicado como artículo de revisión en la Revista de Investigación Talentos 9 (2), 32-52

Acceptado: 29 de agosto de 2022

Publicación Vol 9 (2): 01 de Julio de 2022

phases of vaccine research are mentioned. Also, we display the difficulties that the most affected countries by these infections have in order to participate in the development of vaccines that can be implemented and improve the quality of life of the population.

Keywords: *Infection, immune response, technology, virulence, tropical viruses.*

I. INTRODUCCIÓN

La prevalencia de ciertas enfermedades aumenta en zonas tropicales de algunos países de Sudamérica y América Central con temperaturas e índices de humedad elevados. Estas condiciones climáticas son propicias para promover la reproducción y propagación de insectos que funcionan como vectores para la transmisión de patógenos. Además, la exploración de bosques, deforestación y migraciones humanas, han permitido incrementar significativamente la incidencia de enfermedades emergentes (Kraemer et al., 2015).

Varias de las afecciones con mayor incidencia en las zonas tropicales, son ocasionadas por virus transmitidos por artrópodos, entre los cuales se encuentran: Zika (ZIKV), dengue (DENV) y chikungunya (CHIKV), cuyo impacto epidemiológico es cada vez más elevado en zonas tropicales de América, que comparten determinantes sociales y ambientales favorables para estas enfermedades. A pesar de las medidas de prevención para la propagación de vectores, los esfuerzos son insuficientes para erradicarlos (Kraemer et al., 2015). Los mosquitos del género *Aedes* son los vectores de estos tres virus, por lo tanto, los principales causantes de diseminar la infección en los países que han reportado casos.

A nivel mundial, este tipo de infecciones virales, son causas cada vez más comunes en enfermedades febriles graves, que pueden progresar a un deterioro físico o cognitivo a largo plazo o provocar la muerte prematura. El DENV es conocido como endémico-epidémico en América y desde 1980 se han reportado más de 23 millones de casos de sus 4 serotipos (Salles et al., 2018). El CHIKV apareció en América en 2013 y en solo un año se reportaron 855 890 casos (Yactayo et al., 2016). El ZIKV fue detectado en América por primera vez en 2015 y se han reportado casos en 50 (de 55) países con una incidencia de 150 casos por cada 100 000 habitantes (Rodríguez-Morales et al., 2018)

Queda mucho por entender respecto a los mecanismos de virulencia de ZIKV, DENV y CHIKV; es por ello que la presente revisión tiene como objetivo relacionar la patogenicidad de estos tres arbovirus, con respuesta inmune del hospedero ante estas enfermedades, ya que este tipo de estudios probablemente tengan éxito en dirigir el diseño de vacunas. Cada avance biotecnológico enfocado a este tipo de infecciones, proporciona una visión de las alternativas presentes y futuras que tienen las regiones del trópico para actualizar sus programas de prevención.

II. MÉTODOS

La presente revisión se basó en información obtenida en las bases de datos científicas PUBMED y Google Scholar. Los términos de búsqueda utilizados fueron los siguientes “Zika”, “Dengue”, “Chikungunya”, “Respuesta Inmune”, “Vacunas”, “Epidemiología”. Junto con estos términos se utilizaron los operadores booleanos (AND, OR), limitándonos a artículos en inglés y español.

Para obtener información referente al estatus actual de las vacunas se utilizó la información obtenida en la base de datos de Librería Nacional de medicina donde reposan ensayos clínicos realizados en todo el mundo, financiados con fondos públicos y privados (U.S National Library of Medicine, 2021)

Siguiendo los criterios de exclusión, se descartaron artículos duplicados, en revisión y Tesis de grados.

III. ANÁLISIS

Virulencia y Respuesta Inmune de Zika, Dengue y Chikungunya.

Estos tres arbovirus, causan enfermedades que comparten síntomas similares (Tabla I), asociados a una respuesta innata inespecífica característica de un proceso inflamatorio generalizado, lo cual representa un problema muy común en el diagnóstico en etapas tempranas. Sin embargo, cada uno de ellos tiene un tropismo distinto y mecanismos

de virulencia propios, lo que genera una evolución de la enfermedad diferente en estados avanzados (Tabla I). Además, cada virus ha tenido diferente incidencia en América desde su aparición, lo que ha determinado una epidemiología marcada para cada uno.

Virus del ZIKA

Las consecuencias devastadoras de la infección por ZIKV que se desarrollaron en pacientes con Síndrome congénito de Zika (SCZ) y las complicaciones neurológicas del síndrome de Guillain-Barré, hicieron que la Organización Mundial de la Salud (OMS) declarara una emergencia de salud pública de interés internacional en 2016. Además, las comunidades de investigación debieron priorizar el desarrollo de soluciones preventivas y terapéuticas contra ZIKV (Organización Mundial de la salud, 2018). Posteriormente, en Brasil, se reportaron 3530 casos de SCZ y se estimó que en 83 países del mundo existe la circulación del virus en mosquitos. Para Sudamérica, desde la semana 14 de 2017, se observó una tendencia decreciente de casos sospechosos y confirmados con excepción de Ecuador donde se observó un aumento en el número de casos sospechosos y confirmados entre las semanas 4 y 20 de 2017 (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2016). La rápida expansión de este virus desde su aparición está relacionada con su mecanismo de virulencia y su capacidad de transmitirse por vectores.

Tabla 1.

Comparación de signos y síntomas característicos de zikv, deny y chikv.

Signos y Síntomas	Zika	Dengue	Chikungunya
Fiebre	+	+	+
Dolor de cabeza	+	+	+
Erupción cutánea	+	+	+
Vómito	+	+	+
Mialgia	+	-	+
Fotofobia	+	-	+
Artralgia	+	-	+
Mareo	+	+	-
Inquietud	+	+	-
Dolor abdominal	+	+	-
Diarrea	+	+	-
Comezón	+	-	-
Conjuntivitis	+	-	-
Aturdimiento	+	-	-
Dolor retro-orbital	+	-	-
Anorexia	+	-	-
Estreñimiento	+	-	-
Hipotensión	+	-	-
Hematuria	+	-	-
Prostatitis	+	-	-
Leucopenia	-	+	-
Sangrado de mucosa	-	+	-
Hemorragia leve	-	+	-
Letargo	-	+	-
Acumulación de líquido	-	+	-
Agrandamiento del Hígado	-	+	-
Poliartralgia	-	-	+
Poliartritis	-	-	+
Bursitis	-	-	+
Artritis	-	-	+
Tenosinovitis	-	-	+

Nota. Datos obtenidos de: (Gubler, 1998; Akahata et al., 2010; Oehler et al., 2014; M. Gourinat, 2015; [OPS], 2016)

Mecanismos de Virulencia

ZIKV pertenece a la familia Flaviviridae, posee un genoma de ARN (+) monocatenario, de 10,7 Kb que codifican para tres proteínas estructurales (cápside, membrana y envoltura) y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) (Kuno & Chang, 2007).

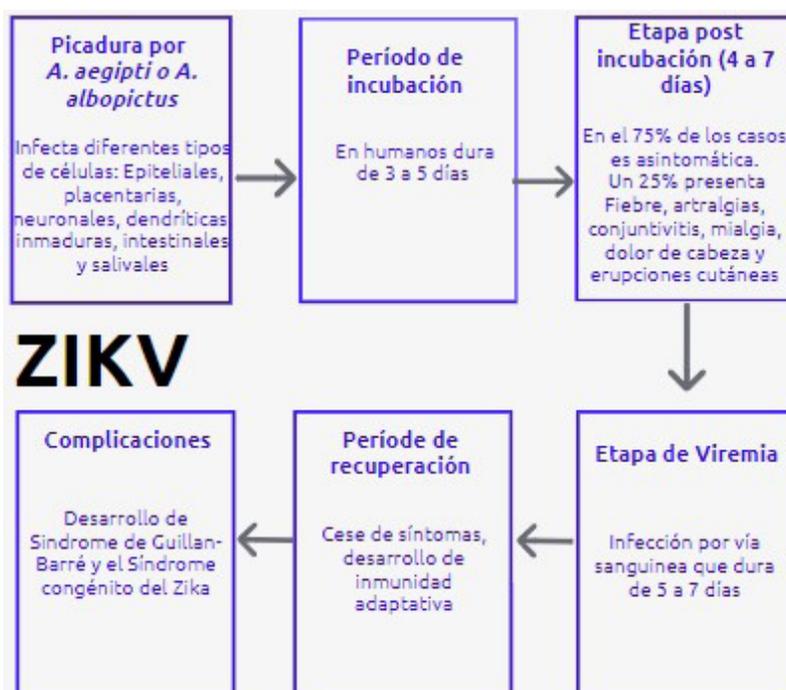
Una vez que ZIKV ingresa en el humano por picaduras de mosquitos del género Aedes, se une a través de la glicoproteína E de la envoltura, a los receptores de membrana Tirosina kinasa (Tyro3, AXL y Mertk), luego ingresa a las células mediante moléculas de adhesión como DC-SIGN (siglas en inglés de Molécula de adhesión intracelular

específica, no integrina de célula dendrítica 3-grabbin o CD209) y empieza su ciclo de replicación en el citoplasma (Hastings et al., 2017). Posteriormente, la infección

evoluciona según como se muestra en la Fig. 1, pero depende de la respuesta inmune del hospedero para que ocurra en los periodos de tiempo establecidos.

Fig. 1.

Evolución de la infección de ZIKV. Datos tomados de: (OPS, 2016; Saiz et al., 2016)



Desarrollo de la Respuesta Inmune del ZIKV

La respuesta inmune innata, se activa una vez que ocurre el reconocimiento de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), por parte de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Entre los principales PRR se encuentran: Los receptores de tipo Toll (TLR3 y TLR7) y los receptores like RIG-1 (RLRs), que incluye RIG-I (gen inducido por ácido retinoico) y MDA5 (factor asociado a la diferenciación de melanoma 5) (Lerat, et. al., 2017).

Los PRR inducen múltiples Interferones (IFNs) que se unen a sus receptores y activan

mediante fosforilación, la vía de activación de la transducción de señales STAT-JAK. STAT2 forma un heterodímero con STAT1 y el Factor Regulador de INF-9 (IRF-9), lo que activa a los elementos de respuesta estimulante de IFN (ISRE) y promueven la expresión del gen estimulado por IFN (ISG) (Chaudhary et al., 2017).

Experimentos realizados en ratones indican que los IFNs desempeñan un papel fundamental como mediador en la protección contra ZIKV y otros flavivirus, destacando que, dependiendo del tipo de célula, la infección por ZIKV puede dar como resultado la producción de IFNs de tipo I, II y III, y la activación de varios ISGs. De esta manera,

se puede diferenciar levemente una respuesta inmune innata a nivel de piel, placenta, cerebro y tracto genital (Ngono & Shresta, 2018). Sin embargo, estudios demuestran que la proteína NS5 del virus ZIKA interfiere con la producción de IFNs, degradando el STAT2 por lo que se considera que esta proteína es crucial para la eficiente replicación viral dentro de la célula (Bowen et al., 2017).

Actualmente, la respuesta inmune adaptativa contra ZIKV está más desarrollada en modelos animales, en los que se han identificado anticuerpos específicos contra la proteína E del virus tales como Z23 y Z3L1 los cuales son capaces de neutralizar el virus y reducir los signos y mortalidad en ratones. La respuesta de las células T CD8+ está orientada hacia las proteínas NS3, NS5 y NS, aunque no se han identificado todos los epítopes en humanos. Se necesitan más estudios para verificar el rol que cumplen las células T, pero se presume que la respuesta de CD4+ y CD8+ podrían tener un rol crucial en el desarrollo de microcefalia (Ngono & Shresta, 2018).

Virus del Dengue

En 2010 se estimó que 96 millones de personas en el mundo estaban infectadas por serotipos del DENV existentes (DENV1-DENV4). El continente más afectado fue Asia con un estimado de 66.8 millones de personas infectadas. Asimismo, América y África se vieron afectadas con 15.7 y 13.3 millones de infecciones respectivamente, mientras que Oceanía tuvo 0.18 millones de infecciones. Se estima que un total de 294 millones de

infecciones asintomáticas o no aparentes, ocurrieron en el mismo año. Además, variables como los niveles de precipitación, temperatura y áreas periurbanas se han relacionado con un mayor riesgo de DENV (Bhatt et al., 2013).

La transmisión horizontal DENV a través del vector determina en gran parte la epidemiología de la enfermedad. La migración humana constituye el principal contribuyente a la propagación del DENV en sus cuatro serotipos que causan manifestaciones clínicas similares que pueden variar dependiendo del estado inmunológico, edad y antecedentes genéticos del hospedero, además, el mecanismo de virulencia caracterizado por su capacidad de infectar varias células permisivas le ha permitido tener presencia durante décadas en América (Bhatt et al., 2013).

Mecanismos de Virulencia

El DENV es de forma esférica y con envoltura simétrica, pertenece a la familia Flaviviridae, posee un genoma de ARN (+) monocatenario con un tamaño aproximado de 11Kb y se transmite a los humanos a través de los mosquitos del género Aedes. Su genoma codifica para tres proteínas estructurales (cápside, membrana precursora, y envoltura) y siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5) (Kuhn et al., 2014).

El ciclo de infección de DENV inicia con la picadura del vector infectado y continúa con la fase de incubación, la fase febril, fase crítica y la fase de recuperación. Existe

mayor probabilidad de deceso del paciente en la fase crítica que en las otras fases que puede reducirse con el tratamiento clínico. El virus interacciona con los receptores de lectina tipo-C ubicados en monocitos, macrófagos, células dendríticas y células de Langerhans. Sin embargo, los receptores no permiten la entrada per se del virus a la célula, sino que la entrada viene dada por un mecanismo de endocitosis mediado por clatrina, que ocurre luego de que la partícula viral ha ingresado por la superficie celular a través de uno o más receptores. Existe un amplio rango de células permisivas ante el DENV, lo que indica que el virus debe unirse a una molécula ubicua de la superficie celular, o interactuar con múltiples receptores (Simmons, et al., 2012).

Los mecanismos de virulencia del DENV aún no han sido descritos de manera clara, debido a que sólo se desarrolla en humanos y no existen modelos animales para su estudio. Lo que se conoce mejor es la evolución de la infección, la cual ocurre como se describe de manera resumida en la Fig. 2. Sin embargo, mediante estudios en cultivos celulares y detección de componentes en el suero de pacientes infectados con DENV, se entiende un poco más respecto a las alteraciones producidas por este virus.

La proteína no estructural del DENV 1 (NS1), produce hiperpermeabilidad endotelial in vitro y fuga vascular in vivo por destrucción de la capa de glucocálix endotelial tipo gel (EGL). NS1 exacerba una infección subletal de DENV pues su aparición viene acompañada de aumentos significativos en los niveles circulantes de citocinas inflamatorias. Por otra parte, DENV NS1 interrumpe

el EGL in vitro y los componentes del glucocálix (heparán sulfato y el condroitina sulfato), circulan a niveles más altos en los sueros de pacientes infectados con DENV en comparación con los controles sanos (Glasner et al., 2017). Esta destrucción de glucocálix genera una fuga excesiva de plasma con un consecuente aumento del hematocrito (hemoconcentración) y derrames pleurales y peritoneales que provocan un shock potencialmente mortal.

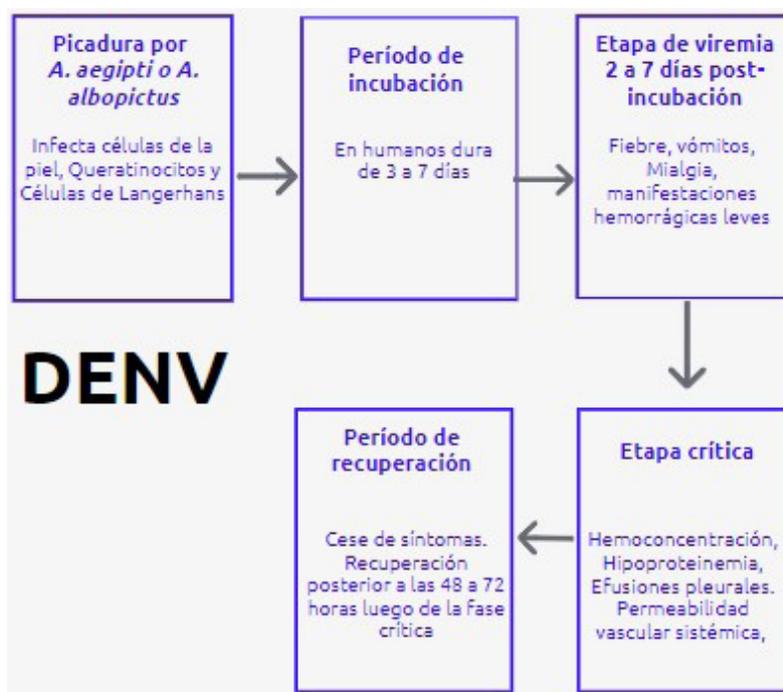
Desarrollo de la Respuesta Inmune del DENV

El ingreso del virus y su interacción con PRRs, produce de manera inmediata la producción de INF-I, esto a su vez promueve la activación de células NK, cuyo rol en la eliminación de células infectadas es crucial para limitar la propagación del virus. La respuesta mediada por INF-I permite la maduración de células dendríticas y la subsecuente activación de células de la inmunidad adaptativa (Azeredo et al., 2006).

La infección confiere inmunidad únicamente ante el serotipo encargado de la patogénesis incluso, un segundo encuentro con un serotipo diferente, predispone al individuo contagiado con DENV a derivar en síndrome de shock del dengue sin generar una respuesta inmune óptima, en un fenómeno conocido como “*Original antigenic sin*” (Mongkolsapaya et al., 2003).

Fig. 2.

Evolución de la infección del DENV. Datos tomados de: (Simmons et al., 2012; Bhatt et al., 2013).



Varios estudios indican que en pacientes que sufren este síndrome, aumentan considerablemente los niveles de citoquinas por parte de las células CD8+ que reconocen epítomos de DENV expresados por la célula infectada (Rothman, 2011). Estas citoquinas tienen acción sobre las células endoteliales vasculares que generan la fuga de plasma característica de una infección secundaria. Las células T específicas de aquellos individuos con infección previa leve o subclínica de DENV, producen solo granzima B, mientras que las células T de aquellos pacientes que sufrieron infección hemorrágica tienden a ser doblemente positivas para IFN γ y TNF α (Jeewandara et al., 2015).

Virus del Chikungunya

CHIKV es un alphavirus que pertenece a la familia Togaviridae y se trasmite a los humanos por picaduras de mosquitos del

género Aedes. Su aparición se remonta al año 2013, cuando en sólo 7 meses hubo 400.000 casos en 20 países de América y su rango global está entre 6-8 millones de casos. Además, se estima que existen 50 casos por cada 100.000 habitantes y el rango global de fatalidad está estimado en 1/1000 habitantes (Calvo et al., 2021). A pesar de su reciente brote, sus mecanismos de virulencia le han permitido infectar diferentes tipos de tejidos y órganos claves como el cerebro.

Mecanismos de Virulencia

CHIKV está compuesto por una sola cadena genómica de ARN (+) de 12000 nucleótidos que codifica para 4 proteínas no estructurales (NSP1 a NSP4) y 5 proteínas estructurales (cápside, E1 y E2) junto con dos productos de escisión pequeños (E3 y 6K). Las proteínas

estructurales como la glicoproteína E1 media la fusión con las membranas endosómicas dependientes del pH, mientras que la glicoproteína E2 interactúa con los receptores de la superficie celular. Además, la expresión de proteínas estructurales de la cápside E1 y E2, y los productos de escisión E3 y 6K; permiten la formación de partículas similares a virus (VLP) que son similares a la estructura externa de los alfavirus y son inmunogénicas (Kendall et al., 2019).

Se piensa que el CHIKV ingresa a las células, gracias a polisacáridos y proteínas como: MHC, laminina, heparina y DC-SIGN. En 2015, se describió que CHIKV ataca tejidos como el nodo linfático, músculo, hígado y bazo. Sin embargo, los fibroblastos de músculos, articulaciones y piel, capas epiteliales y endoteliales de muchos órganos incluyendo el cerebro son los principales objetivos del virus. A veces los dolores crónicos en articulaciones se deben a una respuesta llevada a cabo por la IL-6 y granulocitos-macrófagos (C. Okeoma, 2016). Este virus no destruye el cerebro por lo que no se lo considera como neurotrópico, sin embargo, como se aprecia en la Tabla I, si afecta a las meninges.

La enfermedad transmitida por CHIKV es sintomática en el 50-97% de los casos, sin embargo, la mayoría de casos en niños y pacientes de edad avanzada, se tornan incapacitantes (Burt et al., 2017). Se definen tres etapas del desarrollo de la infección para CHIKV (Fig. 3) en las que el desarrollo de la respuesta inmune puede estar presente años después de superar la infección.

Desarrollo de Respuesta Inmune de CHIKV

La inmunidad innata se activa mediante los PRR de leucocitos y fibroblastos que producen IFNs. Los PRR identifican el genoma de ssRNA de CHIKV por ser este parte de los PAMPs; específicamente a través de los TLR (TLR3, TLR7 y TLR8) y los receptores parecidos a RIG-I conocidos como RLRs, los cuales se encargan de detectar ARN viral en el citoplasma. Los IFN-I (IFN α e IFN β) se sintetizan en las fases iniciales de la infección y a su vez activan la transcripción de genes estimulados por IFNs, los cuales se encuentran involucrados en el control viral (Schwartz & Albert, 2010).

En cuanto a la inmunidad adaptativa, la infección por CHIKV eleva las concentraciones de citoquinas pro-inflamatorias (INF α , INF γ e IL 6), citoquinas antiinflamatorias (antagonista del receptor de IL 1 e IL 4) y otras quimiocinas como IL-10 y proteína quimiotáctica de monocitos. Otros estudios han demostrado que CHIKV induce la respuesta de linfocitos T citotóxicos en ratones infectados. Así mismo, los anticuerpos presuntamente dirigidos contra la proteína E2 de tipo IgM, elevan sus concentraciones en los primeros días de la infección, posteriormente, la IgG anti-chikungunya neutralizante se eleva a partir de la segunda semana y persiste hasta 21 meses o durante años (Burt et al., 2017).

Fig. 3.

Evolución de la infección de CHIKV. Datos tomados de: (Schwartz & Albert, 2010; C. Okeoma, 2016).

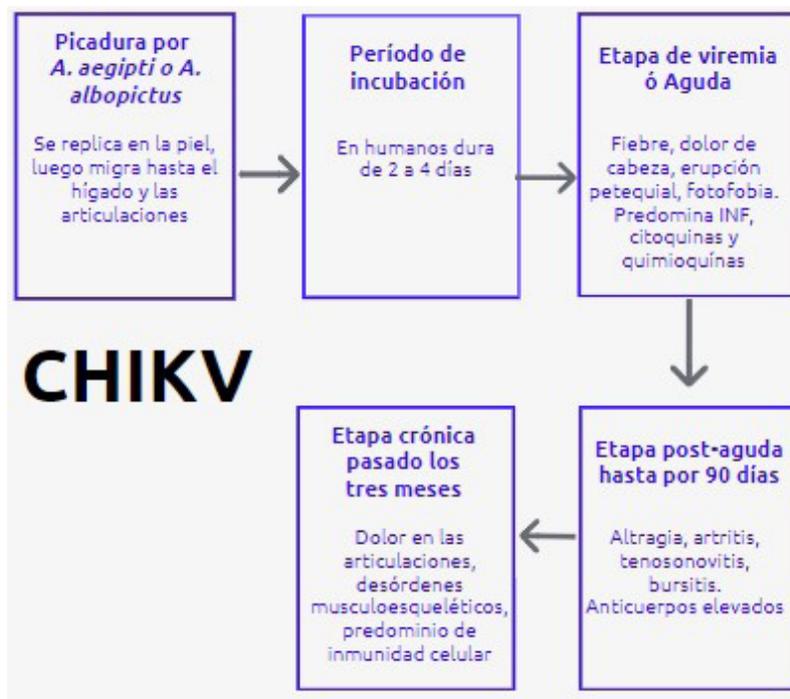
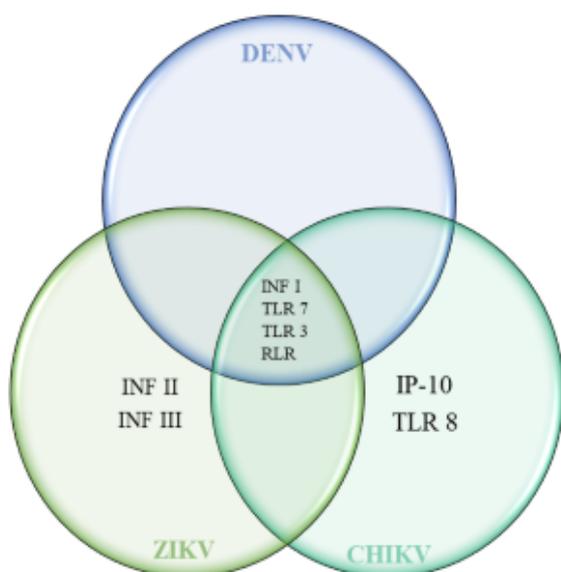


Fig. 4.

Comparación de las citoquinas involucradas en la respuesta inmune ante los 3 virus emergentes. Datos tomados de: (Rodenhuis-Zybert, et al., 2010; OPS, 2016; Saiz et al., 2016; Burt et al., 2017; Hastings et al., 2017; Badolato-Corrêa et al., 2018).



Finalmente, como se ha expuesto anteriormente en las respuestas inmunes las citoquinas son claves ante los tres tipos de virus. En la Fig. 4, vemos de manera resumida las diferencias y las similitudes entre las citoquinas inducidas durante la respuesta inmune contra ZIKV, DENV y CHIKV. Además, conocer sobre la respuesta inmune es clave para crear nuevas estrategias en el desarrollo de vacunas contra virus.

Estatus Actual de las Vacunas Contra ZIKV, DENV Y CHIKV

Según lo descrito, los tres virus (ZIKV, DENV y CHIKV) inducen una respuesta inmunológica similar, por lo que acertar en el diseño de vacunas en uno de ellos, podría ser de gran utilidad para los otros dos virus. Sin embargo, hasta la fecha no hay vacunas

patentadas para la prevención de ninguna de las enfermedades producidas por cada uno de estos. Actualmente, según la revisión de la base de datos de Librería Nacional de medicina donde reposan ensayos clínicos realizados en todo el mundo, financiados con fondos públicos y privados (U.S National Library of Medicine, 2021), algunos estudios se encuentran en las diferentes fases clínicas de manera activa o finalizados y completos, pero en ninguno de los casos los estudios han llegado a la fase clínica IV (Fig. 5A) que es la que ocurre después de la aprobación de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) como tratamiento adecuado para distribuirse

y comercializarse en pacientes y evaluar la seguridad del mismo a través del tiempo. Sólo los estudios de la vacuna contra el DENV han logrado alcanzar la fase III en la cual, se compara la seguridad y eficacia del nuevo tratamiento y la definición de efectos adversos asociados, en estudios doble ciego a una cantidad de pacientes significativos. En todos los casos existen estudios en fase I, los cuales se realizan en individuos normales y evalúan tanto toxicidad como la relación dosis/respuesta, y Fase II que valoran la eficacia y seguridad de las vacunas. En la Tabla II se mencionan los ensayos clínicos, que han avanzado hasta la fase más alta en cada uno de los virus estudiados.

Fig 5. A) Número de ensayos en fases clínicas según el tipo de virus estudiado. B) Tipo de tecnología empleada para la vacuna. C) Países que participan en el desarrollo de ensayos clínicos de vacunas contra ZIKV, DENV y CHIKV. Nota de gráfico: Vacuna de ADN (vADN), vacuna de RNA mensajero autosimplificado (mRNA), virus recombinante (VR), virus atenuado (VA), partículas similares a virus (PLV), virus Inactivo (VI). Datos tomados de: (U.S National Library of Medicine, 2021), aplicando la búsqueda para cada una de las condiciones (dengue, Zika y chikungunya) filtrando únicamente ensayos activos o terminados/completos con detalle de la fase clínica.

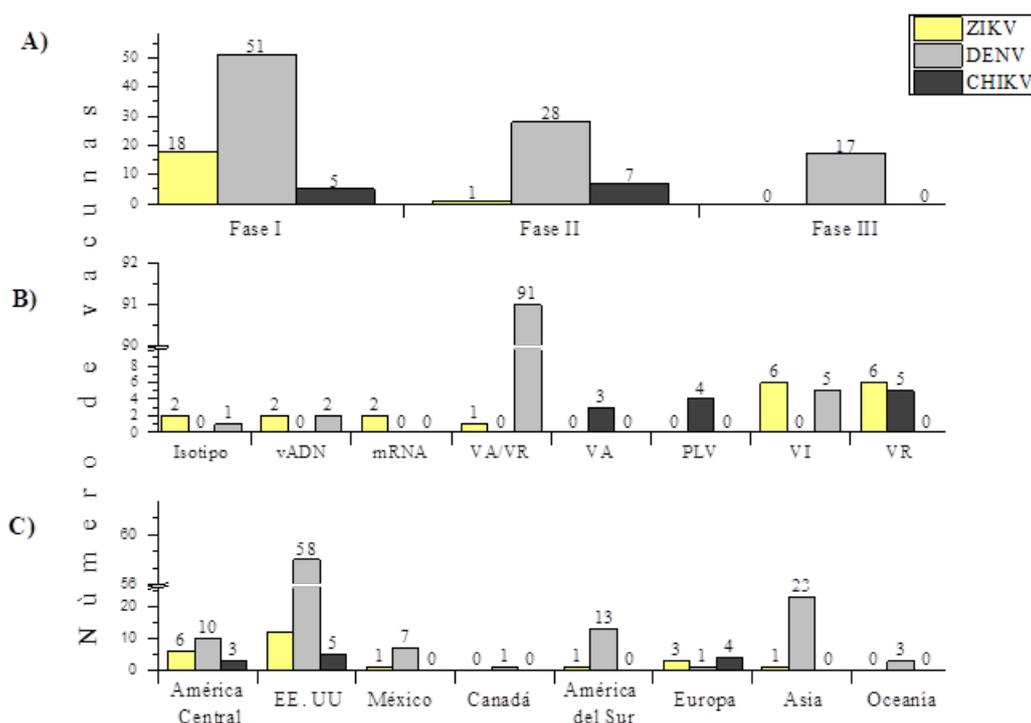


Tabla 2:

Vacunas en fases superiores, candidatas contra ZIKV, CHIKV y DENV.

Nombre de la vacuna	Tecnología	Fase clínica	Localidad	Identificador NTC
ZIKV				
VRC 705	VR	Fase 2	Estados Unidos, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, México, Panamá, Perú y Puerto Rico	NCT03110770
DENV				
DEN-307	VA/VR	Fase 3	EEUU	NCT03771963
CYD33	VA/VR	Fase 3	México	NCT01411241
CYD17	VA/VR	Fase 3	Australia	NCT01134263
DEN-03-IB	VA/VR	Fase 3	Brasil	NCT02406729
CYD14	VA/VR	Fase 3	Indonesia, Malasia, Filipinas, Tailandia y Vietnam	NCT01373281
CYD32	VA/VR	Fase 3	Malasia	NCT01254422
CYD66	VA/VR	Fase 4	Filipinas	NCT02992418
CYD15	VA/VR	Fase 3	Brasil, Colombia, Honduras, México, Puerto Rico	NCT01374516
CYD29	VA/VR	Fase 3	Colombia, Perú	NCT01436396
CYD67	VA/VR	Fase 3	Malasia	NCT02993757
DEN-315	VA/VR	Fase 3	México	NCT03341637
CYD71	VA/VR	Fase 3	México	NCT02979535
DEN-303	VA/VR	Fase 3	No detallado	NCT03999996
DEN-304	VA/VR	Fase 3	Estados Unidos	NCT03423173
DEN-305	VA/VR	Fase 3	Estados Unidos	NCT03342898
DEN-301	VA/VR	Fase 3	Brasil, Colombia, República Dominicana, Nicaragua, Panamá, Filipinas, Sri Lanka, Tailandia.	NCT02747927
DEN-314	VA/VR	Fase 3	Reino Unido	NCT03525119
CHIKV				
MV-CHIK-204	VA/VR	Fase 2	Puerto Rico	NCT03101111
MV-CHIK-202	VA/VR	Fase 2	Austria, Alemania	NCT02861586
MV-CHIK-206	VA/VR	Fase 2	Puerto Rico	NCT03807843
VRC 704	VA/VR	Fase 2	República Dominicana, Haití, Puerto Rico	NCT02562482
PXVX-CV-317-001	PLV	Fase 2	Estados Unidos	NCT03483961
EBSI-CV-317-002	PLV	Fase 2	No detallado	NCT03992872
MV-CHIK-205	VA/VR	Fase 2	Reino Unido	NCT03635086

Nota. Datos tomados de (Librería Nacional de Medicina U.S., 2021), aplicando la búsqueda para cada una de las condiciones (dengue, Zika y chikungunya) filtrando únicamente ensayos activos o terminados/

completos que se encuentren en la fase superior en cada caso. Nota de Tabla: Virus recombinante (VR), Virus atenuado (VA), Partículas similares a virus (PLV).

Estado Actual de Vacunas Contra ZIKV

Con respecto al desarrollo de vacunas contra ZIKV, la comunidad científica mundial ya cuenta con 19 vacunas en fase clínica, las mismas fueron inicialmente evaluadas en estudios no clínicos y han avanzado a pruebas en humanos. Aunque sólo una desarrollada con la tecnología de virus recombinante (VR), ha logrado avanzar a fase 2 (Ramanathan et al., 2018). Se observa que las vacunas basadas en virus inactivos (32%), y virus recombinantes (32%), son las más recurrentes que han llegado a fase clínica (fig. 5B).

Existen también propuestas que se encuentran en fase no clínica, entre las cuales se encuentra la desarrollada por Betancourt et al, quienes en el 2017 fueron el primer grupo en utilizar Virus recombinante de la estomatitis vesicular (VSV) que expresa las proteínas Zika-Envoltura y Zika-pre-Membrana. Dos inmunizaciones con estos vectores dieron como resultado una respuesta de anticuerpos contra el Zika que protegió a los ratones nacidos de madres vacunadas, contra el desafío letal del Zika (Betancourt et al., 2017). Otras de las propuestas aún en etapas tempranas de desarrollo, basadas en la tecnología de RNA mensajero (mRNA) que utilizan nanopartículas para introducir el mRNA que codifica la proteína premembrana y de envoltura, que servirá como el inductor de anticuerpos neutralizantes (Pardi et al., 2017).

Debido a que la secuencia de aminoácidos de la proteína E es altamente conservada y

que las proteínas estructurales que forman la envoltura viral son las principales dianas al momento de diseñar y obtener una vacuna, se plantea usar preferiblemente las glicoproteínas de superficie E1 y E2, que median la fusión y la interacción con los receptores de la superficie celular (Culshaw et al., 2018).

Otros aspectos a considerar en cada planteamiento de formulaciones de vacunas son: los tipos de infección viral, los linajes celulares que afecta y la respuesta innata diferenciada a nivel de piel, placenta y cerebro. Adicionalmente, la seguridad de la población a la cual va dirigida las vacunas, especialmente mujeres embarazadas, es un criterio clave para desarrollarlas (Poland et al., 2018). Tal vez, por ello la tasa de deserción en fases preclínicas en la producción de vacunas es alta, lo que justifica que apenas 19 estudios han pasado a fases clínicas, pues el resto no cumple con todas las consideraciones mencionadas.

Estado Actual de Vacunas Contra DENV

El desarrollo de vacunas contra el DENV inició en 1929, es por ello que, de los tres virus estudiados, es el que cuenta con un mayor número de desarrollos. Una vacuna protectora contra DENV debe ofrecer la misma respuesta inmune en términos de proporción y calidad, que la de una infección secundaria por DENV; es decir, los anticuerpos neutralizantes deben ser de alta afinidad, producirse en grandes cantidades,

ser específicos y con reacción cruzada contra todos los serotipos DENV; esto garantizará una protección sostenida contra infecciones posteriores (Guy & Jackson, 2016). En la Fig. 5B se describe, que las tecnologías usadas en los tipos de vacunas, que han superado las fases pre-clínicas, son las de virus atenuados recombinantes (92%), virus inactivo (5%), vacuna de ADN (2%) y vacunas de isotipos de anticuerpo (1%).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, los estudios mostrados incluyen 90 ensayos de vacunas contra el DENV en fases clínicas, que se obtienen a través de varios pases en cultivos de tejidos, vacunas quiméricas, de proteínas recombinantes y de ADN. Las vacunas de VA/VR han ocupado los estadios más avanzados de ensayo clínico en todas las fases. Un ejemplo es la vacuna CYD-TDV (Dengvaxia®), la cual está compuesta por los cuatro serotipos de DENV más el esqueleto de la cepa del virus de fiebre amarilla y que fue desarrollada por Sanofi Pasteur, y licenciada en México en 2015 y luego en otros 18 países, sin embargo, Filipinas suspendió su uso en 2017 (Fatima & Syed, 2018).

Aunque, las vacunas vivas atenuadas son prometedoras, siguen siendo preocupantes por la aparición de síntomas similares al DENV. Es imperativo que cualquier vacuna candidata produzca inmunidad sólida contra cada uno de los cuatro serotipos del DENV, de lo contrario, el individuo vacunado puede estar en riesgo de desarrollar una enfermedad grave (fiebre hemorrágica del dengue / síndrome de shock del dengue) después de la exposición al serotipo del virus contra el cual había una inmunidad protectora incompleta.

Las vacunas de ADN, las de vectores virales y las vacunas recombinantes, son posibles vacunas candidatas, pero requieren más evaluaciones en primates no humanos antes de iniciar los ensayos clínicos. Un ejemplo de esto es la vacuna propuesta por Costa (2007), en donde se analizan cuatro (4) vacunas de ADN basadas en la proteína NS1, la cual es altamente inmunogénica e induce protección sin generar anticuerpos neutralizante potenciadores de respuesta con un posible riesgo de dengue hemorrágico (Costa, et al., 2007). Mejorar las formulaciones de antígenos traerá nuevas alternativas, pero hasta la actualidad no existe una vacuna efectiva ante los cuatro serotipos conocidos del virus.

Estado Actual de Vacunas Contra CHIKV

Desde el año 1970, se tienen registros del desarrollo de estrategias para estimular una fuerte inmunidad contra la infección de CHIKV (Harrison, et al., 1971); Sin embargo, hasta el año 2017, no se elaboró una terapia antiviral contra CHIKV y todavía en el año 2018, ninguna vacuna fue autorizada contra este virus (Dapurkar & Telang, 2019).

Son múltiples las tecnologías que se han involucrado en el desarrollo de vacunas contra CHIKV elaboradas por centros de investigación y empresas multinacionales a nivel mundial, pero la mayoría de estas se mantienen en fase pre-clínica, entre las que destaca la descrita en el 2016 por Saraswat y colaboradores basada en las partículas similares a virus de chikungunya (CHIK-VLP) la cual induce una balanceada respuesta

Th1/Th2 con altos niveles de isotipos IgG2a e IgG1 específicos y neutralizantes contra diferentes cepas de CHIKV. Los ratones recién nacidos que recibieron los anticuerpos contra la CHIK-PLV también fueron protegidos contra el siguiente reto con CHIKV. También se confirmó la respuesta inmune celular, por los altos niveles de TNF- α , IL-10, IL-2, IL-4 e IFN (Saraswat et al., 2016).

Cómo describe la Fig. 5B, en fase clínica, existen tres tipos de tecnología VR (42%), PLV (33%) y VA (25%), siendo estas dos últimas la que presenta vacunas en fase II. Siendo la mejor alternativa la tecnología VA, por su capacidad de inducir una inmunización masiva y elevar una inmunidad protectora fuerte a largo plazo en etapas posteriores de ensayos clínicos (Brandler, et al., 2013). Sin embargo, hasta la fecha, no existen vacunas en fase III y al igual que en los casos anteriores, la mejor forma de prevenir la infección contra CHIKV, es la erradicación del vector hasta desarrollar una vacuna más eficiente.

Debido a que CHIKV, ZIKV y DENV afectan un gran número de regiones y países tropicales, resultó igualmente interesante, conocer los países que tienen registro de participación en el desarrollo de este tipo de vacunas. Al evaluar los países que participan en todos estos estudios en la fase clínica, se observa que Estados Unidos y algunos países asiáticos, dominan este tipo de investigación científica (Fig. 5C).

Es importante destacar que ningún país de Latinoamérica se encuentra actualmente desarrollando vacunas contra CHIKV, a pesar de ser uno de los virus que mayor preocupación ha causado, sobre todo por

sus efectos adversos en infantes y adultos mayores.

IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

ZIKV, DENV y CHIKV, no sólo comparten al vector Aedes como factor común, sino que adicionalmente poseen proteínas estructurales similares e inducen respuesta inmune sobre el hospedero, similar en las etapas iniciales, que incluso tiende a confundir al momento del diagnóstico clínico. Otro punto en común entre estos tres virus, ha sido las dificultades de la comunidad científica, para el diseño de una vacuna que pueda comercializarse a nivel mundial.

En base a la plataforma utilizada de la Librería Nacional de Medicina, se demostró que ZIKV ha explorado una mayor variedad de propuestas para la elaboración de vacunas a pesar de ser un virus con pocos años de estudio, demostrando que existe una prioridad para este virus, el cual tiene un factor de riesgo mayor en la población en comparación a los otros dos virus incluidos en esta revisión. Por otro lado, se observa que la tendencia general, es usar vacunas basadas en virus recombinantes por su estabilidad, seguridad y capacidad de estimular una fuerte respuesta inmune.

Adicionalmente, existe un porcentaje alto de propuestas de vacunas a ser desarrolladas en faseclínica, I y II. Para la fase III solo se evidenció propuestas de vacunas para DENV. En el caso de CHIV y ZIKV, factores como la epidemiología, población susceptible,

el comportamiento y los mecanismos de transmisión de los virus pueden ser considerados la causa de pocos estudios en fases superiores. Sin embargo, actualmente el mejor método encontrado para contrarrestar estos tres virus ha sido romper la cadena de transmisión, a través del control de vectores (mosquitos del género *Aedes*).

Los datos presentados en esta revisión, muestran el tipo de tecnología utilizada en la producción de vacunas, así como los países involucrados en este tipo de desarrollos, y permiten concluir que la mayoría de los países que participan en la investigación de vacunas para estos virus tropicales son países industrializados como Estados Unidos y miembros de la Unión Europea, mientras que los países suramericanos y centroamericanos (con excepción de Puerto Rico, México y Brasil), participan en su mayoría como colaboradores en investigaciones multinacionales. En Latinoamérica existen pocos estudios relacionados a la generación de vacunas, esto a pesar de ser una región susceptible a infecciones ocasionadas por ZIKV, DENV y CHIKV.

A pesar que se conocen ampliamente las necesidades y los intereses de la salud pública en los países latinoamericanos, existen varios problemas en este sector que limitan la innovación tecnológica, licenciamientos y patentes. Por otra parte, y quizás lo más influyente en la limitada innovación tecnológica de vacunas, es que la misma es cada vez más costosa pues implica ingeniería genética, altos grados de purificación del antígeno y mayores estándares de producción. Cada vacuna debe estar sujeta a

los diferentes marcos legales y a un amplio número de pruebas y revisiones por parte de la FDA para luego ser considerada como un producto comercial. Por lo tanto, términos como pertinencia, tiempo y dinero, influyen directamente en la capacidad de los países en vías de desarrollo para participar de manera activa y autónoma en la elaboración de vacunas.

Es de suma importancia, identificar las metas y los obstáculos presentes en la región, a fin de evitar retrasos en investigaciones innecesarias, por lo tanto, uno de los desafíos es mejorar la gestión de la información y del conocimiento incentivando el intercambio de información entre los científicos, biotecnólogos y profesionales de la salud (médicos, enfermeras, bioanalistas, etc.), en temas relacionados con los avances en el campo de las vacunas.

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Akahata, W., Yang, Z. Y., Andersen, H., Sun, S., Holdaway, H. A., Kong, W. P., Lewis, M. G., Higgs, S., Rossmann, M. G., Rao, S., & Nabel, G. J. (2010). A virus-like particle vaccine for epidemic Chikungunya virus protects nonhuman primates against infection. *Nature Medicine*, 16(3), 334–338. <https://doi.org/10.1038/nm.2105>
- Azeredo, E. L., De Oliveira-Pinto, L. M., Zagne, S. M., Cerqueira, D. I. S., Nogueira, R. M. R., & Kubelka, C. F. (2006).

- NK cells, displaying early activation, cytotoxicity and adhesion molecules, are associated with mild dengue disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 143(2), 345–356. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.02996.x>
- Badolato-Corrêa, J., Sánchez-Arcila, J., Alves de Souza, T., Santos Barbosa, L., Conrado Guerra Nunes, P., da Rocha Queiroz Lima, M., Gandini, M., Bispo de Filippis, A., Venâncio da Cunha, R., Leal de Azeredo, E., & De-Oliveira-Pinto, L. (2018). Human T cell responses to Dengue and Zika virus infection compared to Dengue/Zika coinfection. *Immunity, Inflammation and Disease*, 6(2), 194–206. <https://doi.org/10.1002/iid3.203>
- Betancourt, D., de Queiroz, N. M. G. P., Xia, T., Ahn, J., & Barber, G. N. (2017). Cutting Edge: Innate Immune Augmenting Vesicular Stomatitis Virus Expressing Zika Virus Proteins Confers Protective Immunity. *The Journal of Immunology*, 198(8), 3023–3028. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1602180>
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., Drake, J. M., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., Sankoh, O., Myers, M. F., George, D. B., Jaenisch, T., William Wint, G. R., Simmons, C. P., Scott, T. W., Farrar, J. J., & Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504–507. <https://doi.org/10.1038/nature12060>
- Bowen, J. R., Quicke, K. M., Maddur, M. S., O’Neal, J. T., McDonald, C. E., Fedorova, N. B., Puri, V., Shabman, R. S., Pulendran, B., & Suthar, M. S. (2017). Zika Virus Antagonizes Type I Interferon Responses during Infection of Human Dendritic Cells. *PLoS Pathogens*, 13(2), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006164>
- Burt, F., Chen, W., Miner, J., Lenschow, D., Merits, A., Schnettler, E., Kohl, A., Rudd, P., Taylor, A., Herrero, L., Zaid, A., Ng, L., & Mahalingam, S. (2017). Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(4), e107–e117. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30385-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30385-1)
- Calvo, E. P., Archila, E. D., López, Lady, & Castellanos, J. E. (2021). Chikungunya virus rediscovering. *Biomedica*, 41(2), 1–49. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5797>
- Chaudhary, V., Yuen, K.-Y. K.-S., Chan, J. F.-W., Chan, C.-P. C.-P. C., Wang, P.-H., Cai, J.-P., Zhang, S., Liang, M., Kok, K.-H., Chan, C.-P. C.-P. C., Yuen, K.-Y. K.-S., & Jin, D.-Y. (2017). Selective Activation of Type II Interferon. *Journal of Virology*, 91(14), 1–17. / [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5487581/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5487581/?report=abstract%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5487581/)
- Costa, S. M., Azevedo, A. S., Paes, M. V., Sarges, F. S., Freire, M. S. & Alves, A. M. (2007). DNA vaccines against dengue virus based on the ns1 gene: the influence of different signal sequences

- on the protein expression and its correlation to the immune response elicited in mice. *Virology*, 358, 413–423. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.08.052>
- Culshaw, A., Mongkolsapaya, J., & Screaton, G. (2018). The immunology of Zika Virus [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research*, 7(203), 1–9.
- Dapurkar, D., & Telang, M. (2019). A patent perspective on chikungunya. *Acta Tropica*, 199, 105131. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105131>
- Fatima, K., & Syed, N. I. (2018). Dengvaxia controversy: Impact on vaccine hesitancy. *Journal of Global Health*, 8(2), 8–10. <https://doi.org/10.7189/jogh.08.020312>
- Glasner, D. R., Ratnasiri, K., Puerta-Guardo, H., Espinosa, D. A., Beatty, P. R., & Harris, E. (2017). Dengue virus NS1 cytokine-independent vascular leak is dependent on endothelial glycocalyx components. *PLoS Pathogens*, 13(11), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006673>
- Gubler, D. J. (1998). Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(3), 480–496. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/CMR.11.3.480>
- Guy, B., & Jackson, N. (2016). Dengue vaccine: hypotheses to understand CYD-TDV-induced protection. In *Nature reviews. Microbiology* (Vol. 14, Issue 1, pp. 45–54). <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2015.2>
- Harrison, V. R., Eckels, K. H., Bartelloni, P. J., & Hampton, C. (1971). Production and Evaluation of a Formalin-Killed Chikungunya Vaccine. *The Journal of Immunology. The Journal of Immunology*, 107, 643–647.
- Hastings, A. K., Yockey, L., Jagger, B., Hwang, J., Uraki, R., Gaitsch, H., Parnell, L., Cao, B., Mysorekar, I., Rothlin, C. V., Fikrig, E., Diamond, M., & Iwasaki, A. (2017). TAM Receptors Are Not Required for Zika Virus Infection in Mice. *Cell Reports*, 19(3), 558–568. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.03.058>
- Jeewandara, C., Adikari, T. N., Gomes, L., Fernando, S., Fernando, R. H., Perera, M. K. T., Ariyaratne, D., Kamaladasa, A., Salimi, M., Prathapan, S., Ogg, G. S., & Malavige, G. N. (2015). Functionality of Dengue Virus Specific Memory T Cell Responses in Individuals Who Were Hospitalized or Who Had Mild or Subclinical Dengue Infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(4), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003673>
- Kendall, C., Khalid, H., Müller, M., Banda, D. H., Kohl, A., Merits, A., Stonehouse, N. J., & Tuplin, A. (2019). Structural and phenotypic analysis of Chikungunya virus RNA replication elements. *Nucleic Acids Research*, 47(17), 9296–9312. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz640>
- Kraemer, M. U. G., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A., Shearer, F. M., Brady, O. J., Messina, J. P., Barker, C. M., Moore, C. G., Carvalho, R. G., Coelho, G. E., Van Bortel, W., Hendrickx, G., Schaffner,

- F., Wint, G. R. W., Elyazar, I. R. F., Teng, H. J., & Hay, S. I. (2015). The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. *Scientific Data*, 2, 1–8. <https://doi.org/10.1038/sdata.2015.35>
- Kuhn, R. J., Zhang, W., Rossmann, M. G., Pletnev, S. V., Corver, J., Lenches, E., Jones, C. T., Mukhopadhyay, S., Chipman, P. R., Strauss, E. G., Baker, T. S., & Strauss, J. H. (2014). Structure of Dengue Virus: Implications for Flavivirus Organization, Maturation, and Fusion. *Selected Papers of Michael G Rossmann with Commentaries*, 108(5), 317–325. https://doi.org/10.1142/9789814513357_0037
- Kuno, G., & Chang, G. J. J. (2007). Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Archives of Virology*, 152(4), 687–696. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0903-z>
- M. Gourinat, O. Connor; E. C. C. G. & M. D.-R. (2015). Detection of Zika Virus in Urine. *Emerging Infectious Diseases*, 21(1), 84-86. <https://doi.org/https://doi.org/10.3201/eid2101.140894>.
- Mongkolsapaya, J., Dejnirattisai, W., Xu, X. N., Vasanawathana, S., Tangthawornchaikul, N., Chairunsri, A., Sawasdivorn, S., Duangchinda, T., Dong, T., Rowland-Jones, S., Yenchitsomanus, P. T., McMichael, A., Malasit, P. & Screaton, G. (2003). Original antigenic sin and apoptosis in the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Nature Medicine*, 9, 921-7. [https://doi.org/10.1038/nm887](https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nm887)
- N. Lerat, M. Garcia, M. Wehbe, A. Beby-Defaux, C. Bodet, & Lévêque, N. (2017). Innate immunity against Zika virus. *Reviews in Medical Microbiology*, 28, 167–174.
- Ngono, A. E., & Shresta, S. (2018). Immune Response to Dengue and Zika. *Annual Review of Immunology*, 36, 279–308. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053142>
- Oehler, E., Watrin, L., Larre, P., Leparc-Goffart, I., Lastère, S., Valour, F., Baudouin, L., Mallet, H. P., Musso, D., & Ghawche, F. (2014). Zika virus infection complicated by guillain-barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Eurosurveillance*, 19(9), 7–9. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.9.20720>
- Okeoma, C. (2016). Chikungunya virus: Advances in biology, pathogenesis, and treatment. In C. M. Okeoma (Ed.), *Chikungunya Virus: Advances in Biology, Pathogenesis, and Treatment*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-42958-8>
- Organización Mundial de la salud. (2018). *Enfermedad por el virus de Zika*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>
- Organización Panamericana de la Salud. (2016). *Guideline for Zika virus disease and complications surveillance*. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28234>
- Pardi, N., Hogan, M. J., Pelc, R. S., Muramatsu,

- H., Andersen, H., DeMaso, C. R., Dowd, K. A., Sutherland, L. L., Searce, R. M., Parks, R., Wagner, W., Granados, A., Greenhouse, J., Walker, M., Willis, E., Yu, J. S., McGee, C. E., Sempowski, G. D., Mui, B. L., ... Weissman, D. (2017). Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature*, *543*(7644), 248–251. <https://doi.org/10.1038/nature21428>
- Poland, G. A., Kennedy, R. B., Ovsyannikova, I. G., Palacios, R., Ho, P. L., & Kalil, J. (2018). Development of vaccines against Zika virus. In *The Lancet Infectious Diseases* (Vol. 18, Issue 7, pp. e211–e219). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30063-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30063-X)
- Rodenhuis-Zybert, I. A., Wilschut, J. & Smit, J. M. (2010). Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. *Cell. Mol. Life Sci.*, *67*, 2773–2786. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00018-010-0357-z>
- Rodríguez-Morales, A. Trujillo, A.: Sánchez-Duque, J. Cardona-Ospina, J. Villamil-Gómez, W. Jimenez-Canizalez, C. Paniz-Mondolfi, A. (2018). Clinical and Epidemiological Implications of Zika Virus Infection: The Experience of RECOLZIKA in Colombia. *Current Topics in Zika*, *1*.
- Rothman, A. L. (2011). Immunity to dengue virus: A tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nature Reviews Immunology*, *11*(8), 532–543. <https://doi.org/10.1038/nri3014>
- Saiz, J. C., Vázquez-Calvo, Á., Blázquez, A. B., Merino-Ramos, T., Escribano-Romero, E., & Martín-Acebes, M. A. (2016). Zika virus: The latest newcomer. *Frontiers in Microbiology*, *7*(APR), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00496>
- Salles, T. S., Da Encarnação Sá-Guimarães, T., De Alvarenga, E. S. L., Guimarães-Ribeiro, V., De Meneses, M. D. F., De Castro-Salles, P. F., Dos Santos, C. R., Do Amaral Melo, A. C., Soares, M. R., Ferreira, D. F., & Moreira, M. F. (2018). History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: A review. *Parasites and Vectors*, *11*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2830-8>
- Samantha Brandler, Claude Ruffié, Chantal Combredet, Jean-Baptiste Brault, Valérie Najburg, Marie-Christine Prevost, André Habel, Erich Tauber, Philippe Desprès, F. T. (2013). A recombinant measles vaccine expressing chikungunya virus-like particles is strongly immunogenic and protects mice from lethal challenge with chikungunya virus. *Vaccine*, *31*(36), 3718–3725. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.086>.
- Saraswat, S., Athmaram, T. N., Parida, M., Agarwal, A., Saha, A., & Dash, P. K. (2016). Expression and Characterization of Yeast Derived Chikungunya Virus Like Particles (CHIK-VLPs) and Its Evaluation as a Potential Vaccine Candidate. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *10*(7), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004782>

Schwartz, O., & Albert, M. L. (2010). Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 491–500. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2368>

Simmons, C. P., Farrar, J. J., Van Vinh Chau, N. & Wills, B. (2012). Dengue. *New England Journal of Medicine*, 366, 1423–1432. <https://doi.org/https://doi.org/10.1056/NEJMra1110265>

U.S National Library of Medicine. (2021). <https://clinicaltrials.gov/>. Clinical Trials. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2>

Yactayo, S., Staples, J. E., Millot, V., Cibrelus, L., & Ramon-Pardo, P. (2016). Epidemiology of chikungunya in the americas. *Journal of Infectious Diseases*, 214(Suppl 5), S441–S445. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw390>