

Wirus Zika — nowo pojawiający się czynnik zakaźny przenoszony przez krew

Zika Virus — a new blood borne infectious agent

Piotr Radziwon

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Białymstoku
 Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Wirus Zika jest arbowirusem z rodzaju Flavivirus. Wykazuje tropizm do komórek płodów oraz osób dorosłych, między innymi do komórek męskiego układu płciowego. Przenosi się drogą wektorową przez komary z rodzaju Aedes, poprzez zakażoną krew i tkanki, a także kontakt płciowy. Uprzywilejowanie immunologiczne męskich jąder może tłumaczyć przetrwanie wirusa w jego tkankach i stanowienie aktywnego rezerwuaru wirusa. W ostatnim okresie przeniesienia przez komary zakażenia wirusem Zika potwierdzono w 70 krajach z obszaru Ameryki Południowej i Środkowej, Afryki Środkowej, Azji Południowej, rejonu Południowego Pacyfiku. Okres wylegania zakażenia trwa od kilku dni do tygodnia. Choroba przebiega bezobjawowo nawet w 80% przypadków. Pełnoobjawowa choroba przypomina grypę z odropodobną wysypką obejmującą skórę całego ciała z towarzyszącym świądem.

Zakażenie wirusem Zika może skutkować małopłóciem i/lub uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego u płodu. U dorosłych może wystąpić zespół Guillaina-Barrégo. Stwierdzono także, że zakażeniu wirusem Zika mogą towarzyszyć ostre zakażenia wirusem dengue i/lub wirusem chikungunya. Z tego względu zaleca się równoczesne badanie markerów kilku arbowirusów.

W celu laboratoryjnego potwierdzenia zakażenia wirusem Zika należy stosować metody molekularne (RT-PCR), pozwalające wykryć RNA wirusa. Obecnie dostępne testy serologiczne mają ograniczoną wartość w diagnostyce zakażeń. Niektóre z obecnie znanych i stosowanych leków (chlochinina, azytromycyna, sofosbuvir) okazują się skuteczne w leczeniu zakażenia wirusem Zika. W Polsce obowiązuje aktualnie 28-dniowa dyskwalifikacja krwiodawców powracających z obszarów o potwierdzonej transmisji wirusa Zika lub zgłaszających kontakty seksualne z osobami, u których stwierdzono zakażenia wirusem Zika, lub z osobami, które przebywały na terenach występowania zakażeń wirusem Zika. Zalecenia te nie dotyczą krwiodawców oddających osocze przeznaczone wyłącznie do frakcjonowania.

Słowa kluczowe: wirus Zika, flawiwirus, małopłócie, zespół Guillaina-Barrégo

J. Transf. Med. 2017; 10: 84–89

Summary

Zika virus is an arbovirus from Flavivirus genus. It has broad cellular tropism infecting a wide range of foetal cells as well as adult cells particularly of the male sexual system. It is transmitted by vector — Aedes mosquitos, by infected blood and tissues and also by sexual

contact. Testicular immune privilege may explain the persistence of the virus in these tissues, potentially acting as an active reservoir of the virus. In the recent years mosquito-borne Zika virus transmission has been confirmed in 70 countries of South and Central America, Middle Africa, South Asia, and South Pacific Region. The incubation period lasts from several days to one week. In 80% of cases the Zika virus infection is asymptomatic. Symptomatic cases resemble influenza accompanied by skin rash and itching skin on the entire body.

Zika virus infection may cause microcephaly and/or damage to the foetus central nervous system. In adults the Guillain-Barre syndrome may occur. Several acute co-infections with dengue virus and/or chikungunya have been reported. It is therefore recommended to perform appropriate multiplexed arboviral testing.

In order to confirm Zika virus infection molecular methods (RT-PCR) for viral RNA detection should be used. In some cases serological assays may not be useful. Several known drugs/compounds (eg. chloroquine, azithromycin, sofosbuvir) have been shown effective in the treatment of Zika virus infection. In Poland now there is a 28 day deferral for donors returning from areas where virus transmission has been confirmed or reporting sexual contacts with persons diagnosed with Zika virus infection or travelling to Zika virus affected regions. Such safety measures do not apply to donors of plasma dedicated solely for fractionation.

Key words: Zika virus, flavivirus, microcephaly, Guillain-Barre syndrome

J. Transf. Med. 2017; 10: 84–89

Wstęp

Wirus Zika, podobnie jak wirus denga i wirus Zachodniego Nilu, należy do arbowirusów z rodzaju *Flavivirus*, rodziny *Flaviviridae*. Jego podstawowe cechy przedstawiono w tabeli 1.

Transmisja wirusa Zika

Droga wektorowa

Wirusa Zika mogą przenosić komary z rodzaju *Aedes* (*A. albopictus* — komar tygrysi, *A. aegypti* — komar żółtej gorączki), które są również odpo-

wiedzialne za rozprzestrzenienie wirusów denga i chikungunya.

Zakażona krew i tkanki

Znane są trzy prawdopodobne przypadki zakażenia drogą przetoczenia składników krwi. Pierwszy jest związany z przetoczeniem koncentratu krwinek płytkowych (KKP) otrzymanego z krwi pobranej od osoby zakażonej. W pozostałych dwóch przypadkach różnym biorcom przetoczono dwie jednostki KKP z aferezy. Wprawdzie objawów zakażenia u biorców nie stwierdzono, ale w ich krwi wykryto materiał genetyczny wirusa.

Tabela 1. Charakterystyka wirusa Zika

Table 1. Characteristics of Zika virus

Wirus Zika	
Materiał genetyczny	Pojedyncza nić RNA o dodatniej polarności
Wielkość	10 794 nukleotydów
Trwałość	Ulega zniszczeniu po 15 minutach w temperaturze 60°C, po 2 h w 0,5-procentowym roztworze nadmanganianu potasu, zachowuje aktywność po 24 h w 10-procentowym etanolu lub 0,5-procentowym fenolu
Tropizm	Komórki płodowe: fibroblasty, makrofagi, trofoblasty, komórki Hofbauera, pępowinowe komórki mezenchymalne, macierzyste komórki nerwowe Spermatogonia, pierwotne spermatocyty, komórki Sertoliego w jądrach, komórki okołokanalikowe
Rezerwuuar	Komórki okołocewkowe i spermatogonia
Linie	Afrykańska Azjatycka (wyższy wskaźnik substytucji — większa zdolność adaptacyjna i zjadliwość) [1]

Tabela 2. Najważniejsze fakty z historii rozprzestrzeniania się wirusa Zika

Table 2. The most important historical facts about spread of Zika virus

1947 r.	Wykrycie wirusa Zika w Ugandzie
1960–1980	Zakażenia ludzi w Afryce i Azji (typowo o łagodnych objawach)
2007 r.	Pierwsza duża fala zachorowań na wyspie Yap (Mikronezja) związana z przeniesieniem się wirusa z Azji Południowo-Wschodniej poprzez Pacyfik
2013–2014	Fala zachorowań we Francuskiej Polinezji Powiązanie zespołu Guillaina-Barrégo z zakażeniem wirusem Zika
Maj 2015 r.	Pierwsze doniesienie o miejscowym przeniesieniu wirusa w Ameryce Południowej (Brazylia)
Grudzień 2015 r.	Pierwsze doniesienie o związku zakażenia wirusem Zika z małogłowiem
Luty 2016 r.	Szybkie rozprzestrzenianie się wirusa na terenach występowania komarów <i>Aedes</i> w obu Amerykach

Stwierdzono wiele przypadków przeniesienia zakażenia z ciężarnych matek na ich płody. Ryzyko zakażenia płodu jest tym większe, im dłuższy jest okres wiremii u matki.

Kontakt płciowy

RNA wirusa jest wykrywane w nasieniu do 6 miesięcy i dłużej (12 miesięcy) od zakażenia [2, 3]. Uprzywilejowanie immunologiczne męskich jąder może tłumaczyć przetrwanie wirusa w jego tkankach i stanowienie aktywnego rezerwuaru wirusa [4]. Wazektomia nie chroni przed przetrwaniem wirusa w jądrach, ponieważ wirus Zika zakaża także komórki dystalnych części układu płciowego (prostata, pęcherzyki nasienne, bliższe i dalsze gruczoły opuszkowo-cewkowe) [5, 6]. Najdłuższy okres stwierdzania RNA wirusa w układzie płciowym kobiet wynosi 14 dni od zakażenia [7]. Obecność wirusa w ślinie stwierdzano od 29 do 49 dni po zakażeniu [5]. Pomimo przytoczonych obserwacji, ryzyko wywołania epidemii zakażeń przenoszonych drogą płciową na obszarach, gdzie nie występuje wektor (komary *Aedes*), uważa się za niskie.

Epidemiologia

W tabeli 2 przedstawiono najważniejsze fakty z historii rozprzestrzeniania się wirusa Zika.

W okresie od 2015 roku do 9 marca 2017 roku przeniesienie zakażenia wirusem Zika przez komary potwierdzono w 70 krajach z obszaru Ameryki Południowej i Środkowej, Afryki Środkowej, Azji Południowej, rejonu Południowego Pacyfiku. W 13 krajach odnotowano zakażenie drogą kontaktu płciowego, w 31 krajach stwierdzono małogłowie i inne zaburzenia rozwojowe ośrodkowego układu nerwowego u noworodków spowodowane zakażeniem wirusem Zika, a w 4 krajach zarejestrowano przypadki zespołu Guillaina-Barrégo.

Częstość wykrywania przeciwciał skierowanych do wirusa Zika w rejonach bytowania komarów *Aedes* sięga 49%. Mniej więcej połowa zakażeń przebiega bezobjawowo. Seroprewalencja jest wyższa wśród dzieci w wieku szkolnym i w tej grupie stosunek zakażeń bezobjawowych do objawowych wynosi 1:2 [8].

Objawy i przebieg choroby

Okres wylegania (lub okres inkubacji choroby) trwa od kilku dni do tygodnia. Choroba nawet w 80% przypadków przebiega bezobjawowo. Jeśli już wystąpią objawy, są one zazwyczaj łagodne i u większości osób przechodzą niezauważone jako lekkie osłabienie i złe samopoczucie. Pełnoobjawowa choroba przypomina grypę z odropodobną plamisto-grudkową wysypką obejmującą skórę całego ciała (wraz z dłoniowymi powierzchniami rąk i podeszwami stóp) z towarzyszącym świądem o różnym nasileniu. Może się pojawić gorączka, bóle mięśni i stawów, osłabienie oraz bóle głowy. Czasem pojawia się również nieropne zapalenie spojówek [9–11].

Skutki zakażenia wirusem Zika

Małogłowie i/lub uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego u płodu

Wady wrodzone występują u około 11% noworodków urodzonych przez matki zakażone wirusem Zika w pierwszym trymestrze ciąży. U noworodków urodzonych przez matki zakażone w drugim lub trzecim trymestrze ciąży dotychczas nie obserwowano wad. Uszkodzenie układu nerwowego objawia się: zwiększonym napięciem mięśniowym, skurczami, hiperefleksją, spastycznością, skurczami napadowymi, zwapnieniami mózgu, atrofią mózgu, powiększeniem komór mózgowych. Fakt niestwierdzenia małogłowie u noworodka urodzonego przez

matkę zakażoną wirusem Zika nie wyklucza występowania uszkodzeń mózgu i późniejszego wolniejszego wzrostu mózgu — zalecane jest wykonanie badań radiologicznych [12–14].

Zespół Guillaina-Barrégo

Do 4 tygodni od zakażenia mogą wystąpić objawy neurologiczne pod postacią ostrej zapalnej polineuropatii demielinizacyjnej [15]. U około 50% chorych występuje obustronne porażenie mięśni twarzy. Patomechanizm prowadzący do wystąpienia tego zespołu nie jest jeszcze w pełni poznany. Przypuszcza się, że może mieć związek z bezpośrednim oddziaływaniem wirusa na komórki nerwowe lub nadmierną *odpowiedzią immunologiczną na zakażenie* [16].

Inne skutki zakażenia wirusem Zika

Oprócz powyższych przypadków opisano również pojedyncze przypadki zgonów, ciężkiej małopłytkowości, przejściowej głuchoty u dorosłych, obustronnego zapalenia tylnego odcinka naczyńówki oka, zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego, przejściowego zapalenia mięśnia sercowego.

Obszar występowania wirusa Zika w znacznej mierze pokrywa się z występowaniem wirusa *chikungunya* oraz wirusa *dengue*. Ponadto wirusy te są przenoszone przez te same gatunki komarów, w związku z czym zwykle zakażeniu wirusem Zika towarzyszą ostre zakażenia wirusem *dengue* i/lub wirusem *chikungunya*. Dlatego zaleca się równoczesne badanie markerów zakażenia trzema arbowirusami. Co ciekawe, obecność przeciwciał do wirusa *dengue* sprzyja zakażeniu wirusem Zika, co może mieć wpływ na poważniejsze skutki zakażenia, szczególnie u kobiet w ciąży [17–23].

Rozpoznanie i wykrywanie

Obraz kliniczny towarzyszący zakażeniom wirusem Zika nie jest charakterystyczny. W przypadku podejrzenia zakażenia wirusem Zika najważniejszy jest prawidłowo przeprowadzony wywiad dotyczący podróży odbytej przez pacjenta lub osoby z najbliższego otoczenia. Ponieważ wirusy genetycznie podobne mają wspólny wektor, obszary występowania i objawy kliniczne jak również ze względu na to, że występują krzyżowe reakcje w testach serologicznych, podczas diagnozowania zakażenia należy uwzględnić także zakażenia wywoływane przez inne niewystępujące w Polsce arbowirusy, na przykład zakażenie wirusem *dengue* i *chikungunya*.

W celu potwierdzenia zakażenia wirusem Zika zaleca się stosowanie metod molekularnych (RT-PCR), wykrywających obecność RNA wirusa w krwi pełnej (RNA wykrywalne jest nawet ponad 100 dni po zakażeniu). Ten dość długi okres wykrywalności wirusa dotyczy również wirusa Zachodniego Nilu i wirusa *dengue* oraz wynika z adsorpcji RNA wirusa na erytrocytach [24]. Mniejsze znaczenie diagnostyczne mają wyniki oznaczeń NAT w osoczu. Ze względu na dość krótki okres detekcji RNA wirusa Zika w osoczu (ok. tygodnia od momentu zakażenia) oraz niski zazwyczaj poziom wirerii oprócz surowicy zaleca się wykorzystywanie do diagnostyki innych płynów ustrojowych chorego: moczu (obecność RNA wirusa do ok. 20 dni od wystąpienia objawów) oraz nasienia (do ok. 62 dni) [25, 26].

W diagnostyce zakażeń wirusem Zika ograniczone zastosowanie mają badania serologiczne. Swoiste przeciwciała w klasie IgM przeciwko wirusowi Zika pojawiają się około 6. dnia od wystąpienia objawów, natomiast w klasie IgG mogą być wykrywane kilka miesięcy po ustąpieniu choroby. Ze względu na to, że IgM nie przechodzą przez łożysko ani przez barierę krew–mózg, stwierdzenie obecności IgM w surowicy noworodka potwierdza wrodzone zakażenie wirusem Zika, a wykrycie IgM w płynie mózgowo-rdzeniowym noworodków z małogłowiec potwierdza zakażenie układu nerwowego. Wskazana jest analiza co najmniej jednej pary surowic, pobranej od chorego w odstępie 2–3 tygodni (wykazanie serokonwersji lub czterokrotnego wzrostu miana swoistych przeciwciał) i zastosowanie, w przypadkach wątpliwych, testów bardziej swoistych (testy neutralizacji wirusa — NT) [27].

Wadą niektórych testów jest ich krzyżowa reaktywność z innymi flawiwirusami (np. u chorych zaszczepionych przeciwko żółtej gorączce czy zapaleniu mózgu przenoszonymu przez kleszcze). Testy serologiczne, w których wykorzystano antygen NS1, charakteryzują się wysoką swoistością wykrywania IgM i IgG i niską reaktywnością krzyżową z przeciwciałami do wirusa *dengue*.

Leczenie i zapobieganie

Niektóre z obecnie znanych i stosownych leków okazują się skuteczne w leczeniu zakażenia wirusem Zika:

- **chlochinina**: zmniejsza liczbę zakażonych wirusem komórek *in vitro* i hamuje produkcję wirusa; po podaniu kobiecie ciężarnej w osoczu płodu uzyskuje się 50% maksymalnego skutecznego stężenia [28];

- **azytromycyna**: antybiotyk makrolidowy, bezpieczny dla kobiet w ciąży, hamuje namnażanie się wirusa i ogranicza niszczenie komórek gleju i astrocytów [29];
- **sofosbuvir**: inhibitor polimerazy nukleotydowej (stosowany do leczenia zakażeń HCV), hamuje replikację wirusa Zika w wątrobie, komórkach łożyska i komórkach nerwowych pnia [30].

W fazie badań klinicznych są przeciwciała monoklonalne, które wiążą się z trzeciorzędowymi epitopami białka otoczki wirusa, wykazują swoistą neutralizację wirusa Zika bez wiązania i neutralizacji wirusa *dengue*. Trwają także badania nad szczepionkami opartymi na DNA (GLS-5700) i mRNA.

Zalecenia w służbie krwi

W Polsce aktualnie obowiązują 28-dniowa dyskwalifikacja krwiodawców:

- powracających z obszarów o potwierdzonej transmisji wirusa Zika;
- zgłaszających kontakty seksualne z osobami, u których stwierdzono zakażenia wirusem Zika lub z osobami, które przebywały na terenach występowania zakażeń wirusem Zika:
 - w ciągu ostatnich 2 miesięcy, w przypadku gdy wyżej wymieniona osoba jest kobietą;
 - w ciągu ostatnich 6 miesięcy, w przypadku gdy wyżej wymieniona osoba jest mężczyzną.

Zalecenia te nie dotyczą krwiodawców oddających osocze przeznaczone wyłącznie do frakcjonowania.

Piśmiennictwo

1. Liu H, Shen L, Zhang XL, et al. From discovery to outbreak: the genetic evolution of the emerging Zika virus. *Emerg Microbes Infect.* 2016; 5(10): e111, doi: [10.1038/emi.2016.109](https://doi.org/10.1038/emi.2016.109), indexed in Pubmed: [27780969](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27780969/).
2. Barzon L, Pacenti M, Franchin E, et al. Infection dynamics in a traveller with persistent shedding of Zika virus RNA in semen for six months after returning from Haiti to Italy, January 2016. *Euro Surveill.* 2016; 21(32), doi: [10.2807/1560-7917.ES.2016.21.32.30316](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.32.30316), indexed in Pubmed: [27542178](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27542178/).
3. Nicastrì E, Castilletti C, Liuzzi G, et al. Persistent detection of Zika virus RNA in semen for six months after symptom onset in a traveller returning from Haiti to Italy, February 2016. *Euro Surveill.* 2016; 21(32), doi: [10.2807/1560-7917.ES.2016.21.32.30314](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.32.30314), indexed in Pubmed: [27541989](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27541989/).
4. Ma W, Li S, Ma S, et al. Zika Virus Causes Testis Damage and Leads to Male Infertility in Mice. *Cell.* 2016; 167(6): 1511–1524.e10, doi: [10.1016/j.cell.2016.11.016](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.016), indexed in Pubmed: [27884405](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27884405/).
5. Froeschl G, Huber K, von Sonnenburg F, et al. Long-term kinetics of Zika virus RNA and antibodies in body fluids of a vasectomized traveller returning from Martinique: a case report. *BMC Infect Dis.* 2017; 17(1): 55, doi: [10.1186/s12879-016-2123-9](https://doi.org/10.1186/s12879-016-2123-9), indexed in Pubmed: [28068904](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28068904/).
6. Arsuaga M, Bujalance SG, Díaz-Menéndez M, et al. Probable sexual transmission of Zika virus from a vasectomised man. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16(10): 1107, doi: [10.1016/S1473-3099\(16\)30320-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30320-6), indexed in Pubmed: [27676342](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27676342/).
7. Murray KO, Gorchakov R, Carlson AR, et al. Prolonged Detection of Zika Virus in Vaginal Secretions and Whole Blood. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23(1): 99–101, doi: [10.3201/eid2301.161394](https://doi.org/10.3201/eid2301.161394), indexed in Pubmed: [27748649](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27748649/).
8. Aubry M, Teissier A, Huart M, et al. Zika Virus Seroprevalence, French Polynesia, 2014–2015. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23(4): 669–672, doi: [10.3201/eid2304.161549](https://doi.org/10.3201/eid2304.161549), indexed in Pubmed: [28084987](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28084987/).
9. Petersen LR, Jamieson DJ, Honein MA. Zika virus. *N Engl J Med.* 2016; 375: 294–5.
10. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid Risk Assessment. Zika virus disease epidemic: potential association with microcephaly and Guillain-Barré syndrome, Fourth update, 9 March 2016, Stockholm. : ECDC.
11. Nhan T-X, Musso D. Émergence du virus Zika. *Virologie.* 2015; 19: 225–35.
12. Honein MA, Dawson AL, Petersen EE, et al. US Zika Pregnancy Registry Collaboration. Birth Defects Among Fetuses and Infants of US Women With Evidence of Possible Zika Virus Infection During Pregnancy. *JAMA.* 2017; 317(1): 59–68, doi: [10.1001/jama.2016.19006](https://doi.org/10.1001/jama.2016.19006), indexed in Pubmed: [27960197](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27960197/).
13. Muller WJ, Miller ES. Preliminary Results From the US Zika Pregnancy Registry: Untangling Risks for Congenital Anomalies. *JAMA.* 2017; 317(1): 35–36, doi: [10.1001/jama.2016.18632](https://doi.org/10.1001/jama.2016.18632), indexed in Pubmed: [27960198](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27960198/).
14. Honein MA, Jamieson DJ. Monitoring and Preventing Congenital Zika Syndrome. *N Engl J Med.* 2016; 375(24): 2393–2394, doi: [10.1056/NEJMe1613368](https://doi.org/10.1056/NEJMe1613368), indexed in Pubmed: [27960068](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27960068/).
15. Parra B, Lizarazo J, Jiménez-Arango JA, et al. Guillain-Barré Syndrome Associated with Zika Virus Infection in Colombia. *N Engl J Med.* 2016; 375(16): 1513–1523, doi: [10.1056/NEJMoa1605564](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1605564), indexed in Pubmed: [27705091](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27705091/).
16. Frontera JA, da Silva IRF. Zika Getting on Your Nerves? The Association with the Guillain-Barré Syndrome. *N Engl J Med.* 2016; 375(16): 1581–1582, doi: [10.1056/NEJMe1611840](https://doi.org/10.1056/NEJMe1611840), indexed in Pubmed: [27705077](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27705077/).
17. Azevedo RSS, Araujo MT, Martins Filho AJ, et al. Zika virus epidemic in Brazil. I. Fatal disease in adults: Clinical and laboratory aspects. *J Clin Virol.* 2016; 85: 56–64, doi: [10.1016/j.jcv.2016.10.024](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.10.024), indexed in Pubmed: [27835759](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27835759/).
18. Boyer Chamard T, Schepers K, Breurec S, et al. Severe Thrombocytopenia after Zika Virus Infection, Guadeloupe, 2016. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23(4): 696–698, doi: [10.3201/eid2304.161967](https://doi.org/10.3201/eid2304.161967), indexed in Pubmed: [27997330](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27997330/).
19. Vinhaes ES, Santos LA, Dias L, et al. Transient Hearing Loss in Adults Associated With Zika Virus Infection. *Clin Infect Dis.* 2017; 64(5): 675–677, doi: [10.1093/cid/ciw770](https://doi.org/10.1093/cid/ciw770), indexed in Pubmed: [27927858](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27927858/).
20. Kodati S, Palmore TN, Spellman FA, et al. Bilateral posterior uveitis associated with Zika virus infection. *Lancet.* 2017; 389(10064): 125–126, doi: [10.1016/S0140-6736\(16\)32518-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32518-1), indexed in Pubmed: [27939402](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27939402/).
21. Niemeyer B, Niemeyer R, Borges R, et al. Acute Disseminated Encephalomyelitis Following Zika Virus Infection. *Eur Neurol.* 2017; 77(1-2): 45–46, doi: [10.1159/000453396](https://doi.org/10.1159/000453396), indexed in Pubmed: [27894121](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27894121/).

22. Galliez RM, Spitz M, Rafful PP, et al. Zika Virus Causing Encephalomyelitis Associated With Immunoactivation. *Open Forum Infect Dis.* 2016; 3(4): ofw203, doi: [10.1093/ofid/ofw203](https://doi.org/10.1093/ofid/ofw203), indexed in Pubmed: [28053996](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28053996/).
23. Aletti M, Lecoules S, Kanczuga V, et al. Transient myocarditis associated with acute Zika virus infection. *Clin Infect Dis.* 2017; 64(5): 678–679, doi: [10.1093/cid/ciw802](https://doi.org/10.1093/cid/ciw802), indexed in Pubmed: [27940942](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27940942/).
24. Lustig Y, Mannasse B, Koren R, et al. Superiority of West Nile Virus RNA Detection in Whole Blood for Diagnosis of Acute Infection. *J Clin Microbiol.* 2016; 54(9): 2294–2297, doi: [10.1128/JCM.01283-16](https://doi.org/10.1128/JCM.01283-16), indexed in Pubmed: [27335150](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27335150/).
25. Faye O, Faye O, Diallo D, et al. One-step RT-PCR for detection of Zika virus. *J Clin Virol.* 2008; 43(1): 96–101, doi: [10.1016/j.jcv.2008.05.005](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.05.005), indexed in Pubmed: [18674965](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18674965/).
26. Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, et al. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21(1): 84–86, doi: [10.3201/eid2101.140894](https://doi.org/10.3201/eid2101.140894), indexed in Pubmed: [25530324](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25530324/).
27. Steinhagen K, Probst C, Radzimski C, et al. Serodiagnosis of Zika virus (ZIKV) infections by a novel NS1-based ELISA devoid of cross-reactivity with dengue virus antibodies: a multicohort study of assay performance, 2015 to 2016. *Euro Surveill.* 2016; 21(50), doi: [10.2807/1560-7917.ES.2016.21.50.30426](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.50.30426), indexed in Pubmed: [28006649](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28006649/).
28. Delvecchio R, Higa LM, Pezzuto P, et al. Chloroquine, an Endocytosis Blocking Agent, Inhibits Zika Virus Infection in Different Cell Models. *Viruses.* 2016; 8(12), doi: [10.3390/v8120322](https://doi.org/10.3390/v8120322), indexed in Pubmed: [27916837](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27916837/).
29. Retallack H, Di Lullo E, Arias C, et al. Zika virus cell tropism in the developing human brain and inhibition by azithromycin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016; 113(50): 14408–14413, doi: [10.1073/pnas.1618029113](https://doi.org/10.1073/pnas.1618029113), indexed in Pubmed: [27911847](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27911847/).
30. Bullard-Feibelman KM, Govero J, Zhu Z, et al. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection. *Antiviral Res.* 2017; 137: 134–140, doi: [10.1016/j.antiviral.2016.11.023](https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.11.023), indexed in Pubmed: [27902933](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27902933/).