



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE SALUD

SUBSECRETARÍA DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD

DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA

PROGRAMA DE RESIDENCIA MÉDICA EN EPIDEMIOLOGÍA

Tesis

“Epidemiología Molecular del Virus Zika en México 2015-2016”

Para obtener el grado como Médico Especialista en Epidemiología

Presenta

Dr. Eduardo López Ortiz

Director

Dr. José Alberto Díaz Quiñónez

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

“Dr. Manuel Martínez Báez”

Asesores

Dr. Alfonso Méndez Tenorio
Escuela Nacional de Ciencias
Biológicas

Dr. Juan Francisco Román Pedroza
Instituto de Diagnóstico y
Referencia Epidemiológicos

Dr. Ernesto Ramírez González
Instituto de Diagnóstico y
Referencia Epidemiológicos

CD.MX., 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

RESUMEN -----	5
1.-INTRODUCCIÓN -----	6
2.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA -----	9
3.-MARCO TEÓRICO-----	11
4.-JUSTIFICACIÓN-----	20
5.-OBJETIVOS -----	22
6.-MATERIAL Y MÉTODOS -----	23
7.-CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD-----	25
8.-RECURSOS MATERIALES Y HUMANOS -----	25
9.- LIMITANTES-----	25
10.-RESULTADOS -----	27
11.- DISCUSIÓN -----	47
12 REFERENCIAS -----	51
ANEXOS-----	57

Índice de figuras y tablas.

Figura 1.-Ejemplo gráfico de las curvas epidémicas de acuerdo dinámica de transmisión. a) Fuente común intermitente. b) Fuente común continua. c) Fuente puntual. d) Fuente propagada. Adaptado de (45).....	13
Figura 2.-Curva de casos confirmados por semana epidemiológica hasta la SE 45 2016 (76).	20
Figura 3 Mapa coroplético tasa de incidencia SE25 2016	31
Figura 4 Mapa coroplético tasa de incidencia 2016.....	32
Figura 5 Mapa con regiones INEGI	34
Figura 6 Curva epidémica casos confirmados ZIKV 2015-2016.....	36
Figura 7 Secuencias publicadas en GenBank por año	37
Figura 8 Cladograma 282 secuencias ZIKV	39
Figura 9 Cladograma con identificación de las secuencias usadas en análisis Bayesiano.	40
Figura 10 Cladograma obtenido por neighbor joining de las secuencias usadas en el análisis Bayesiano	42
Figura 11 Modelo demográfico tamaño de población en el tiempo	43
Figura 12 Árbol filogenético construido por máxima credibilidad para el clado	44
Figura 13 Cladograma obtenido por neighbor joining de las secuencias espacial y temporalmente relacionadas a las circulantes en México.	45
Figura 14 Árbol filogenético obtenido por máxima credibilidad del clado para las secuencias de américa.....	47
Tabla 1 Casos de ZIKV confirmados por entidad en 2015.....	27
Tabla 2 Edad en casos de ZIKV confirmados en 2015	27
Tabla 3 Diez entidades con mayor número de casos en 2016.....	29
Tabla 4 Días transcurridos hasta obtención de resultado por laboratorio	30
Tabla 5 Entidades con las diez tasas de incidencia más elevadas durante 2016.	30
Tabla 6 Entidades con las primeras cinco tasas de incidencia acumulada por 100,000 habitantes por sexo.....	31
Tabla 7 Estimadores de la definición operacional en casos confirmados de ZIKV hasta la SE 25.....	32
Tabla 8 Estimadores de la definición operacional en casos confirmados de ZIKV 2016.....	32
Tabla 9 Significancia test chi cuadrado	33
Tabla 10 Casos por región INEGI, ZIKV 2016	34
Tabla 11 Tasas SE 25 por región INEGI,ZIKV 2016.....	35
Tabla 12 Tasas por región INEGI ZIKV, 2016	35
Tabla 13 Secuencias por país	37
Tabla 14 Secuencias por país usadas para análisis Bayesiano.	39
Tabla 15 Código de colores usados en cladograma para reconocimiento por origen.....	41
Tabla 16 Estimadores filogenéticos del análisis skyline	42
Tabla 17 Estimadores filogenéticos de análisis skyline secuencias de américa.....	46

Abreviaturas, siglas y acrónimos

ARN: Ácido ribonucleico.

CHIKV: Virus Chikungunya.

DGE: Dirección General de Epidemiología

ESPII: Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional.

Hibridación virtual: Detección secuencias en un gen utilizando sondas virtuales.

IgG: Inmunoglobulina G.

IgM: Inmunoglobulina M.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

InDRE: Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.

MCC: Árbol de máxima credibilidad. Es un árbol que resume los resultados de la inferencia filogenética Bayesiana.

MCMC: Cadenas de Markov Monte Carlo .

Neighbor Joining: Método de creación de árboles filogenéticos que conglopera las secuencias basado en la distancia evolutiva.

Nm: Nanómetro.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

PCR.RT: Reacción en cadena de polimerasa por transcripción reversa.

RNLSP: Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública.

RSI: Reglamento Sanitario Internacional.

SE: Semana epidemiológica.

SINAVE: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

SUAVE: Sistema Único Automatizado para la Vigilancia Epidemiológica.

TMRCA: El tiempo en que se originó el individuo del cual otros organismos descienden.

ZIKV: Virus Zika.

Resumen

Introducción: Debido a la asociación de la infección por el ZIKV con un síndrome congénito y complicaciones neurológicas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró una Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII), en Febrero de 2016. Durante la Quinta Reunión del Comité de Emergencias de la OMS, se concluyó que este reto de salud pública requiere un mecanismo técnico a largo plazo para gestionar una respuesta global.

Objetivo: Descripción epidemiológica de los casos confirmados por laboratorio del brote en México, utilizando estimadores clásicos y moleculares.

Material y métodos: Se calculó la incidencia, razones de las variables sexo, edad, estado asignado, fecha de inicio de síntomas, sintomatología predominante y comorbilidades. Se describirá la caracterización clínica de los casos confirmados por laboratorio de las fases que componen el brote en México representado en la curva epidémica. Se construyó árbol filogenético utilizado para el análisis Bayesiano de la filodinámica del ZIKV y su filogeografía.

Resultados: Durante 2015-2016 se notificaron 91, 715 registros, de los cuales hay 19,902 con resultado valido de laboratorio (positivo o negativo). Los estados con mayor número de casos fueron Veracruz, Yucatán, Guerrero, Nuevo León, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Morelos, Colima. La distribución de los casos en el país y la sensibilidad de los síntomas contenidos en la definición operacional mostraron diferencias estadísticamente significativas para diferentes momentos de la curva epidémica. Las distancias genéticas encontradas con los métodos de hibridación virtual y *neighbor joining* para las secuencias aisladas en diferentes regiones del mundo son consistentes, apuntando a la separación entre linajes africano y asiático. El estudio de población y viral y la dinámica del virus en el continente americano sugiere la trasmisión sostenida en el territorio americano y la posible participación de múltiples eventos de introducción a la región y al país.

Conclusiones: El análisis de las diferencias de las secuencias de los virus circulantes en diferentes regiones permite calcular el momento en que se originó una variedad de virus y el momento en que se introdujo a una población inmunológicamente susceptible para orientar la búsqueda de casos y contención de complicaciones de forma prospectiva y retrospectiva

Palabras clave: virus zika, filogenia, epidemiologia molecular.

Citación sugerida

López-Ortiz E, Román-Pedroza JF, Méndez-Tenorio A, Díaz-Quiñonez JA. Epidemiología Molecular del Virus Zika en México 2015-2016 [Tesis de grado especialidad médica]. Ciudad de México: UNAM; 2017.

1.-Introducción

El virus Zika (ZIKV) pertenece a la misma familia y grupo que el virus Dengue, el virus del Nilo Occidental, virus de Fiebre Amarilla y Encefalitis Japonesa, los *Flaviviridae* (1). Mide aproximadamente 50nm (2), tiene forma icosaédrica (3) y una cubierta que contiene material genético de ARN monocatenario de 10.7 kilobases de longitud (4).

El ARN codifica una poliproteína compuesta por 10 proteínas, siete de las cuales son no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5) y tres estructurales [proteína de la cápsida (C), proteína de membrana (M) y de envoltura (E)] con diferentes funciones e importantes interacciones en las fases que llevan a una célula a infectarse y ensamblar partículas virales nuevas (5).

El ZIKV toma su nombre del bosque en Uganda donde se aisló por primera vez en un mono *Rhesus*, durante una investigación sobre la prevalencia y circulación del virus de la Fiebre Amarilla (6). ZIKV es un arbovirus transmitido por la picadura de mosquitos del género *Aedes* (7), cuya infección en los humanos se había descrito inicialmente como un síndrome febril autolimitado (8).

El ZIKV circuló en África y Asia en diferentes especies (9) (10), con reporte de casos esporádicos; pero sin información sobre algún brote que haya afectado la salud a poblaciones humanas hasta el año 2007 en la isla Yap (11), donde se presentaron 5,000 casos (70% de la población de la isla) (9) y el periodo 2013-2014 con la notificación de 30,000 casos (11.5% de la población) en la Polinesia Francesa (12), ambos estados en el Océano Pacífico.

En el continente Americano la introducción del virus se documentó con el reporte del primer caso autóctono en Isla de Pascua, Chile, en enero de 2014 (9). La dispersión de este virus, relacionado al linaje Asiático del cual el primer reporte se remonta a 1966 en Malasia (13), continuó en el noroeste de Brasil. El primer caso confirmado se reportó en mayo de 2015, en el estado de Bahía, Brasil (14) y en octubre del mismo año en Bolívar, Colombia (15).

Después de confirmar la asociación de la infección por el ZIKV con un síndrome congénito y complicaciones neurológicas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró una Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII), en Febrero de 2016 (16), atendiendo a los lineamientos del Reglamento Sanitario Internacional (RSI) (17). El 18 de noviembre de 2016, durante la Quinta Reunión del Comité de Emergencias de la OMS, establecido en virtud del RSI acerca de la microcefalia, otros trastornos neurológicos y el

ZIKV, se concluyó que este reto de salud pública requiere un mecanismo técnico a largo plazo para gestionar una respuesta global (18).

Para el 2 de febrero de 2017 había 76 países o territorios con reporte de transmisión autóctona, de los cuales 70 lo han hecho desde el 2015. En 29 países se han registrado casos de microcefalia y malformaciones asociadas a síndrome congénito y son 21 los que han notificado incremento en los casos de Síndrome de Guillain-Barré asociado a la infección por ZIKV (19).

En México, los primeros casos de infección por ZIKV se reportaron en 2015: En octubre, un caso importado, masculino de 26 años originario de Querétaro con antecedente de viaje a Santa Marta, Colombia. Presentó fiebre, cefalea y malestar general sin exantema (20). Noviembre: Notificados en la semana epidemiológica (SE) 48 dos casos autóctonos en Nuevo León y Chiapas (21).

Desde su introducción el ZIKV que circula en México comparte características genéticas con el de los otros países afectados en el continente (20) (22).

Desde la introducción de ZIKV y hasta la SE 29 de 2017, la última actualización del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), cuenta con el registro de 9.183 casos confirmados en 26 entidades federativas (23).

No se conocen con precisión los factores que han llevado a la rápida dispersión del virus desde África hasta llegar a Asia y América. Los eventos que han tenido lugar para la separación de linajes filogenéticos con diferencias en la patogenicidad y la adaptación a varios tipos de hospederos apuntan a que el virus, el mosquito vector y la migración de los hospederos han tenido participación en un escenario muy dinámico (24) (25) (26). El plan de respuesta de la OMS ante el actual brote involucra el detallado estudio de estos componentes para predecir si las intervenciones tendrán el mejor impacto en la salud de la población afectada y susceptible, en espera de limitar las complicaciones consecuencia de la infección (27).

Los estudios filogeográficos permiten analizar los patrones acerca del origen, la expansión y el efecto que tiene el ambiente sobre la evolución en el material genético (28). Se logra a través de una prueba de hipótesis acerca de la relación entre la distribución espacial de las especies y los fenómenos geográficos en su entorno. El objetivo inicial de los estudios filodinámicos era la descripción e interpretación de características cualitativas en las secuencias genéticas (29). Posteriormente se adoptó el método de máxima parsimonia, el cual involucra los datos obtenidos tanto de las secuencias genéticas como de las localizaciones en las que se aislaron (28). Finalmente, mediante la introducción de la inferencia basada en modelos se ha acuñado el nombre de filogeografía estadística (30). En el modelo de coalescencia, se utiliza el abordaje probabilístico que considera dentro del análisis la incertidumbre que implica el desconocimiento de la geografía de los ancestros que no fueron aislados.

La estadística involucrada en los estudios filogeográficos estima la congruencia topológica y la compila en forma de un árbol. El árbol *filogenético* obtenido con este método es una “hipótesis” que se prueba correlacionándolo con los potenciales desencadenantes de la divergencia genética para una región en específico. Las inferencias obtenidas contribuyen a definir los determinantes para la diferenciación alopátrica así como los momentos de hibridación e introgresión para la reconstrucción de la historia evolutiva, en este caso del ZIKV (28).

Este trabajo describirá la epidemiología del brote en México utilizando la información oficial de la base de datos de infección por ZIKV del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica con información al cierre del año 2016 y la dispersión del ZIKV mediante el cálculo de estimadores epidemiológicos, considerando las características filogenética de virus aislados en distintas partes del mundo. Esto permitirá conocer detalles para realizar una mejor descripción del comportamiento del brote por ZIKV en México que se mantendrían desconocidos con la mera descripción epidemiológica clásica.

2.-Planteamiento del problema

La discusión actual centra a Uganda, Senegal y República Central de África como las regiones en donde se estima que la dispersión del virus comenzó alrededor del año 1920. Mediante estudios filogenéticos se ha conseguido conocer que existen dos linajes del virus, entre los cuales se reconocen cepas circulantes en el este y oeste de África así como en Asia (24) (31).

La cepa circulante en Asia es la responsable de los brotes en la Isla de Yap, Polinesia Francesa y América (32), además de estar asociada a las complicaciones neurológicas y del desarrollo. No se conoce con precisión la ruta que ha seguido el virus para su migración desde África a América ni cuáles son los mecanismos que han influido en el diferente perfil de transmisibilidad y patogenicidad entre los linajes africano y asiático.

Los reportes que describen clínicamente a los casos son discordantes en cuanto al patrón de sintomatología (21) (33) (34). El perfil de signos y síntomas en la infección por ZIKV se comparte con otras infecciones causadas por arbovirus que co-circulan en México como el virus Chikungunya y el virus del Dengue. No se cuenta con un análisis de este patrón a través de las diferentes fases de la epidemia en México para el periodo 2015-2016.

Existe evidencia que sugiere que cambios en el material genético han contribuido a la mejor adaptación del virus a diferentes hospederos y localizaciones (24) (35), pero no se ha estudiado con el *modelo filodinámico Bayesiano* la velocidad con la cual sucedieron y las regiones que han influido durante la trayectoria que ha seguido para llegar a México, así como su impacto en el perfil epidemiológico.

La detallada descripción filogenética de los virus circulantes en una región y su análisis con la creciente información genética de aislamientos en otras localizaciones permite conocer las rutas de entrada de una cepa. Si se conocen las regiones en donde un patógeno presenta un perfil patogénico particular por eventos evolutivos (36), facilidad para migrar entre hospederos (37), resistencia a medicamentos (38) (39), reconocer la utilidad de la introducción de una vacuna y su eficacia (40) (41), se podrán tomar decisiones informadas para la contención del virus a través de las modificaciones en las prácticas y condiciones de vida en los grupos susceptibles.

Debido a las implicaciones en la morbilidad que provoca la infección a nivel global, es necesario conocer su comportamiento e implementar intervenciones de salud pública que ayuden a hacer frente a la dispersión del virus.

La información epidemiológica disponible en México es un producto obtenido a través de la notificación en el Sistema Único Automatizado para la Vigilancia Epidemiológica (SUAVE) y confirmación por la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP). No se tienen estudios que combinen el uso de esta información con los datos obtenidos a partir del análisis genético que pueden ser útiles para la descripción de la dinámica de transmisión y las actividades encaminadas a vigilarla e interrumpirla.

La respuesta al problema que representa ZIKV y otras enfermedades sujetas a vigilancia epidemiológica requiere trabajo coordinado de diferentes componentes de la salud pública. El avance en la investigación a diferentes niveles científicos, desde la óptica de disciplinas complementarias como la genética, informática y la estadística constituyen herramientas esenciales para el estudio epidemiológico.

Pregunta de investigación

¿Cuáles son los estimadores epidemiológicos que describen los casos confirmados del brote del virus Zika en México, desde el enfoque clásico y molecular, para el periodo 2015-2016?

3.-Marco Teórico

La caracterización epidemiológica está compuesta por el cálculo de estimadores de la magnitud de una enfermedad en la población, entre ellos se encuentran medidas de frecuencia, de asociación y de impacto (42):

En México, desde la introducción del ZIKV la Dirección General de Epidemiología (DGE) ha reportado casos confirmados en 25 de 32 entidades dando un acumulado de 7,873 casos de los cuales 4,426 son en mujeres embarazadas.

La vigilancia epidemiológica en México se realiza mediante el Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vectores (43)

Se define como caso probable a todo paciente que presenta exantema (generalmente maculopapular y pruriginoso) y dos o más de los siguientes síntomas: fiebre, cefalea, conjuntivitis (no purulenta/hiperemia), artralgias, mialgias, edema periarticular, prurito, dolor retroocular y que se identifique alguna asociación epidemiológica.

Para las embarazadas es toda mujer embarazada que presente dos o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, exantema, conjuntivitis (no purulenta), cefalea, mialgias, artralgias o dolor retroocular y que se identifique algunas asociación epidemiológica.

Asociación epidemiológica: Presencia del vector *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus*, antecedente de visita o residencia en áreas de trasmisión en las dos semanas previas al inicio del cuadro clínico o existencia de casos confirmados en la localidad, antecedentes de contacto sexual sin protección en las dos semanas previas de la aparición de los síntomas, con una persona que en las ocho semanas previas al contacto sexual tenga antecedente de residencia o viaje a un área con trasmisión local del ZIKV o con presencia de vectores.

Se define como confirmado todo caso probable con resultado positivo a ZIKV mediante la detección de ARN viral mediante RT-PCR en tiempo real en muestras de suero tomados en los primeros cinco días del inicio del cuadro clínico.

Se clasifica como descartado a todo caso en el que no se demuestre evidencia de la presencia de algún marcador virológico para ZIKV por técnicas de laboratorio avaladas por el InDRE.

En relación a la toma de muestra para la vigilancia epidemiológica se hace bajo el siguiente esquema

En las localidades donde no se ha identificado la circulación del ZIKV, se tomara muestra a los casos que cumplan con la definición estricta de caso probable de enfermedad por el ZIKV (las muestras que no cumplen con este criterio no son procesadas). Una vez identificada la circulación del virus se procederá a muestrear solamente el 5% de los casos que cumplan definición operacional de caso probable de enfermedad por ZIKV.

En mujeres embarazadas que cumplan la definición operacional de caso probable de enfermedad por ZIKV se tomara muestra el 100% de las mismas, aun en las localidades donde ya se identificó el virus

El 10% de los casos confirmados de enfermedad por ZIKV también serán procesados a dengue y CHIK para identificar coinfecciones, priorizando los casos que hayan requerido atención hospitalaria.

Para la detección de coinfecciones con dengue en los casos confirmados a ZIKV se debe aplicar únicamente la determinación de NS1 y ARN mediante RT-PCR en tiempo real. La determinación molecular se debe realizar al 100% de los casos positivos a NS1. No se deberá realizar la determinación de IgM e IgG por el cruce antigénico.

Para la determinación de coinfecciones por CHIKV se debe aplicar únicamente la determinación ARN mediante RT-PCR en tiempo real.

Medidas de Frecuencia

Se utilizan con el fin de hacer comparaciones entre poblaciones a través del tiempo.

Incidencia

Es el número de casos nuevos en un periodo determinado, así como la velocidad con la que aparecen. Es un estimado de la probabilidad y la velocidad con la que los individuos de una población desarrollarán una enfermedad (42).

Con información de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en México la incidencia de infección por ZIKV es de 6.11 por 100,000 habitantes (44)

Tasa de letalidad

Es la proporción de casos de una enfermedad que resultan mortales con respecto al total de casos en un periodo específico

Medidas de razón

La razón de densidad de incidencia y la razón de prevalencia se utilizan para cuantificar las diferencias en la ocurrencia de enfermedad en grupos que difieren en la presencia de cierta característica (sexo, edad, localización, embarazo, etc.).

Curva Epidémica

La curva epidémica es la representación gráfica del número de casos que ocurren durante un brote que suceden en un intervalo de tiempo definido.

A través de la construcción de una curva epidémica es posible definir las características del brote como el patrón de dispersión, su magnitud y la tendencia en el tiempo. El patrón de dispersión se reconoce a partir de la topología que adquiere la curva, proporcionando

información sobre la naturaleza de la fuente o la exposición que tuvieron los casos relacionados al brote.

Existen cuatro patrones principales que adquiere una curva epidémica: fuente común, continua, puntual y propagada (45)(Figura1), este modelo para describir a un brote se ha utilizado para la caracterización clínico-epidemiológica de otras enfermedades transmitidas por vector en México (46).

Las curvas epidémicas por fuente común representan la exposición intermitente o continua a la causa del brote. Las curvas por fuente puntual toman su forma gracias al incremento súbito en los casos desde una línea de base para posteriormente estabilizarse gradualmente con descenso en el número de casos. Las curvas por fuente propagada se deben a la transmisión de persona a persona de un patógeno, se caracteriza por tener múltiples oleadas de casos secundarios y terciarios.

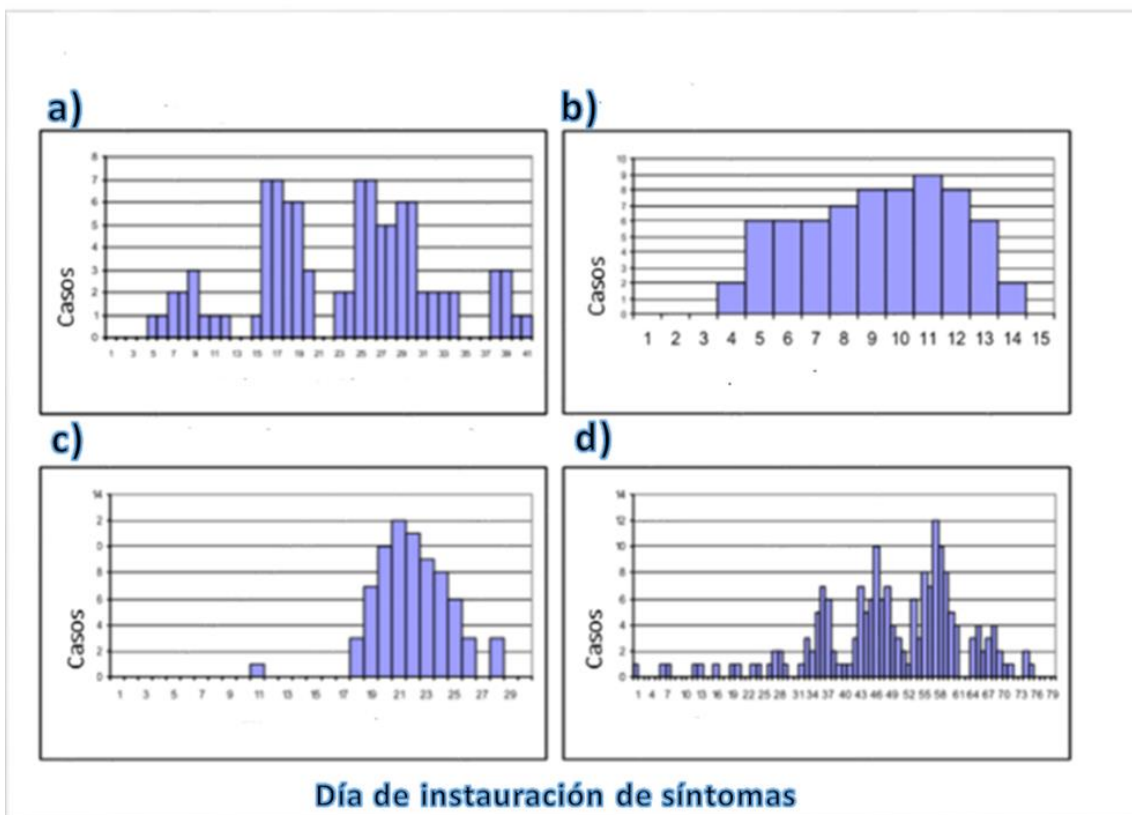


Figura 1.-Ejemplo gráfico de las curvas epidémicas de acuerdo dinámica de transmisión. a) Fuente común intermitente. b) Fuente común continua. c) Fuente puntual. d) Fuente propagada. Adaptado de (45).

Mediante el estudio de los datos que aporta el análisis de una curva epidémica se clasifica la fase en la que un país o región se encuentra en relación a los casos de una enfermedad de reciente introducción como el ZIKV en México.

Cada una de las fases tiene implicaciones en la naturaleza de las intervenciones que es preciso implementar (47):

A.- Escenario pre Epidémico: Ausencia de circulación viral con presencia de factores de riesgo, que permiten la transmisión del virus y su receptividad. Presencia de casos importados aislados.

B.- Escenario Epidémico: Presencia de transmisión viral autóctona y activa con presencia de más de un caso.

C.-Escenario Endemo- epidémico: Presencia de transmisión viral autóctona y detección de circulación viral sostenida y activa.

Epidemiología molecular

La epidemiología molecular es una disciplina que combina la metodología clásica de los estudios epidemiológicos con el análisis de los polimorfismos en el genoma en el contexto de tiempo, lugar y persona.

El concepto surgió entre las décadas de 1970 y 1980 (48), se utiliza para el estudio de las interacciones entre el agente etiológico, el hospedero y el ambiente (49) aplicado al fortalecimiento de la vigilancia (50) de las enfermedades infecciosas, la identificación de agentes causales de enfermedades de reciente introducción (51) (52), el conocimiento de la dinámica de transmisión (53) , fecha de introducción a una región (54), velocidad de mutaciones (55) y diseño de estrategias preventivas (56) (57) y terapéuticas (58).

En el contexto de la microbiología, la epidemiología molecular se apoya en los estudios filodinámicos, dirigidos a conocer las interacciones entre el agente, el ambiente, el hospedero y las modificaciones que sufren cada uno de esos elementos como consecuencia de esa dinámica (59).

Estudios Filodinámicos

Los estudios filodinámicos representan un modelo de estudio que integra conocimientos matemáticos, de epidemiología y filogenética con el propósito de analizar en un modelo la evolución de los patógenos y su movimiento. Este abordaje permite identificar los cambios en el genoma de los patógenos y su relación con los eventos ecológicos que suceden en el mismo contexto de temporalidad (28).

Los estudios filogenéticos parten de los siguientes supuestos que deben ser considerados en el momento de hacer inferencias basadas en el análisis (60)

- 1.- Las secuencias son homólogas (comparten ancestro común)
- 2.- La variabilidad de las secuencias contiene información suficiente para resolver el problema de interés.
- 3.-Las secuencias han tenido evolución de acuerdo al mismo modelo.
- 4.-Cada posición puede evolucionar de manera independiente.

El proceso en el estudio de la filodinámica de un virus, desde el enfoque Bayesiano, parte de la siguiente fórmula:

$$f(\theta|D) = \frac{\Pr(D|\theta) f(\theta)}{\Pr D}$$

Donde:

D: representa la información contenida en las secuencias.

θ : representa la información de los parámetros en el modelo, incluyendo el árbol filogenético, el modelo de sustitución y el reloj molecular.

$f(\theta|D)$: es la distribución posterior

$\Pr(D|\theta)$: es la verosimilitud

$f(\theta)$: distribución previa

$\Pr D$: verosimilitud marginal

En la fórmula está incorporada información de cómo se comportan los datos de acuerdo a observaciones pasadas [$f(\theta)$] y su multiplicación con la verosimilitud [$\Pr(D|\theta)$]. El resultado se expresa como una probabilidad posterior de distribución. La probabilidad posterior de distribución asigna un intervalo de confianza, en el cual se podrá encontrar aquel estimador que se está analizando, y se estima mediante el algoritmo Monte Carlo de Cadenas de Markov (MCMC) (28).

El principio del algoritmo MCMC en la construcción de un modelo de filogenia, radica en la generación de un árbol a partir de la modificación de los parámetros de un árbol anterior. El nuevo árbol es aceptado o rechazado de acuerdo a un procedimiento de muestreo específico. Los árboles que se aceptan a partir de las modificaciones a los parámetros representan nuevos estados, que se acumulan y al cabo de un número de pasos similares alcanzan una distribución estacionaria.

El análisis filodinámico obtenido con el método Bayesiano permite hacer generalizaciones combinando información de eventos pasados con la actual u observada. Está compuesto por los siguientes pasos:

Alineación de secuencias

La alineación es un proceso que consiste en el correcto acomodo de las secuencias que se utilizarán en el análisis filogenético para su comparación (61) (62). Se realiza colocando en filas las secuencias que se van a analizar. Se le denomina “sitio” a la posición individual de cada base en el arreglo. Los sitios en el alineamiento que contienen cambios se les llaman “sitios informativos”.

El grado de similitud que tienen las secuencias alineadas se califican con base a una calificación o *score* (*S*). La significancia estadística del *score* se estudia por el valor *p*, que calcula la probabilidad que cierta alineación se observe por efecto del azar (63).

Los métodos de alineación estadística se usan para evaluar de manera paralela las secuencias usadas para comparar la homología entre ellas y la reconstrucción filogenética obtenida en un árbol filogenético (28).

Elección de un modelo de sustituciones

Los algoritmos usados en los estudios filogenéticos requieren que se utilice un modelo de sustitución de nucleótidos para las secuencias que se analizarán (64).

Todos los modelos describen las diferentes tasas de sustitución de un nucleótido a otro. Adicionalmente se usa la distribución gamma para describir la variación de bases entre los sitios. La elección del modelo de sustitución se toma con base en la verosimilitud que se obtiene en los cálculos donde se utiliza para la estimación de la confiabilidad de los parámetros del árbol filogenético que servirá de base en el análisis (65).

Análisis de los polimorfismos en las secuencias

El estudio de la dinámica de las mutaciones en un virus se utiliza para conocer cuál es su impacto en la dispersión durante una epidemia. Se realiza a través de la identificación de mutaciones *sinónimas* y *no sinónimas* mediante software especializado.

Una mutación sinónima es aquella en la que los cambios en la secuencia resultan en la codificación del aminoácido original, a diferencia de las no sinónimas donde el efecto se traduce en la codificación de un aminoácido diferente del original.

Se llama selección positiva al hallazgo de mayor número de mutaciones no sinónimas en alguna región del genoma (66). La existencia de selección positiva pone a la luz que algún

mecanismo está llevando a que el genoma sufra modificaciones, como mecanismo de adaptación para mejorar las posibilidades de transmisión (62).

Construcción de árbol y cálculo de fecha de ancestro común más reciente

Un árbol filogenético es una representación gráfica de la relación que existe entre la información genética, en este caso de diferentes aislamientos virales alrededor del mundo (67).

Los árboles filogenéticos están contruidos bajo el supuesto de la existencia de ancestros en común de las diferentes cepas (monofiléticos), de esta manera los cambios que han sucedido tienen lugar a lo largo del tiempo. Los árboles filogenéticos contienen nodos externos u hojas llamados unidades taxonómicas operacionales y nodos internos o unidades taxonómicas hipotéticas (61).

La construcción de un árbol filogenético permite la organización y síntesis de la información contenida en las secuencias genéticas con el objetivo de analizar la relación entre la morfología, la función y su evolución.

Los métodos existentes para la construcción de un árbol filogenético se diferencian por la complejidad de los parámetros que se utilizan en el modelo. El método Bayesiano permite integrar todos los valores que toman los parámetros usados en el modelo y ponderarlos con la probabilidad previa para conocer la confiabilidad del árbol, dados los datos de las secuencias.

Cálculo Filogenético de número básico de reproducción

El número básico de reproducción (R_0) es un parámetro que calcula la posibilidad de que un brote se convierta en epidemia. Es el promedio de infecciones secundarias que ocurren, cuando un individuo infectado se introduce a una población susceptible (68). Su resultado es un valor adimensional que expresa la relación que existe entre la transmisibilidad de un patógeno, su duración y la interacción entre los individuos infectados y los susceptibles (69).

El R_0 para la infección por ZIKV se ha descrito anteriormente con diferentes modelos que usan información de parámetros epidemiológicos clásicos como prevalencia e incidencia (70) (71) (72). Mediante el uso de la información de las secuencias genéticas y el análisis de la evolución que han experimentado se puede inferir este parámetro epidemiológico que contribuye a la caracterización epidemiológica del ZIKV desde el enfoque de la epidemiología molecular.

Los cambios que experimentan las secuencias genéticas a través del tiempo son una fuente de información para el cálculo de estimadores epidemiológicos, como el R_0 mediante la fórmula (73):

$$R_0 = \frac{\lambda}{\mu + \psi}$$

La inferencia se obtiene como resultado del análisis Bayesiano de las secuencias genéticas a partir de un modelo llamado 'nacimiento-muerte'. En este modelo 'nacimiento' se refiere al evento de la infección de un individuo y la 'muerte' se refiere a un individuo que ya no se puede infectar (muerte, curación, inmunidad).

Los infectados tienen la capacidad de transmitir la infección a una tasa determinada λ y dejan de transmitirla con una tasa llamada μ . El modelo requiere otro parámetro ψ , que explica la velocidad en la que los individuos se muestrean y se convierten en no infecciosos.

El modelo nacimiento-muerte es útil para generar árboles filogenéticos y para el cálculo de los parámetros λ , μ y ψ mediante la fórmula:

$$f[\tau, \eta, \theta | \text{datos}] = \frac{f[\text{datos}|\tau, \theta]f[\tau|\eta]f[\eta]f[\theta]}{f[\text{datos}]}$$

Donde:

Datos: Son las secuencias genéticas alineadas

θ : Son los parámetros del modelo evolutivo de las secuencias

η Son los parámetros del modelo generador del árbol

τ Es el árbol de transmisión, que describe la relación que tienen las secuencias.

El componente $f[\text{datos}|\tau, \theta]$ es la probabilidad de que las secuencias hayan evolucionado dado el árbol τ .

$f[\tau|\eta]f$: Es la probabilidad de tener el árbol T dado el modelo (BDM) y sus parámetros

$f[\text{datos}]$: Es una constante normalizadora (73).

Elección de patrón filodinámico

El análisis de la forma que toma un árbol filogenético permite hacer inferencias acerca de los cambios que tiene la población en estudio y la velocidad de la dispersión de una infección (incidencia). Esto se logra estudiando la cantidad de linajes que surgen a través del tiempo, reflejados en la distribución y longitud de las ramas de un árbol.

De esta manera la filodinámica de un virus se cataloga dentro los patrones constante, exponencial, expansivo, logístico, constante-expansivo-constante y oscilatorio (74).

La clasificación del comportamiento de un brote dentro de estos patrones, además de estimar la incidencia, permite conocer si una estrategia o intervención (introducción de un programa de vacunación, por ejemplo) está teniendo efecto sobre el grado en que afecta a la población.

Los sistemas de vigilancia pueden utilizar la información obtenida de estos patrones. De acuerdo a la cercanía filogenética de los aislamientos y que tan alejados temporalmente están del ancestro común, se conoce si las definiciones operaciones y la oportunidad en el muestreo están cumpliendo sus objetivos. En otras palabras entre más cercanos estén dos aislamientos significa que se están tomando muestras a una proporción mayor de infectados en un momento dado.

4.-Justificación

Durante la Quinta Reunión del Comité de Emergencias de la OMS se recomendó que la respuesta ante la epidemia se convirtiera en un programa sostenido de trabajo con recursos específicos a fin de abordar la naturaleza a largo plazo de la enfermedad y sus consecuencias asociadas (18).

El plan estratégico de respuesta para ZIKV publicado por la OMS está compuesto por cuatro pilares (75). A.-Detección B.-Prevención C.-Atención médica D.-Investigación

Mediante los cuales se propone el desarrollo y fortalecimiento de los sistemas de vigilancia de la infección por ZIKV en diferentes niveles.

El objetivo de este plan de respuesta es generar la evidencia necesaria para la toma de decisiones esenciales en salud pública para prevenir el impacto de la infección por ZIKV.

Ademas, la OMS ha priorizado la agenda de la investigación en cinco áreas: a) caracterización, b) prevención y control, c) atención a mujeres, d) sistemas de salud, e) coordinación y actividades de apoyo a la investigación, donde se contempla el desarrollo de conocimiento científico de las distintas cepas del ZIKV para el mejor entendimiento de su epidemiología.

Desde el inicio del brote en 2015, la tendencia en México fue con incremento en los casos hasta la semana epidemiológica 39 del 2016 en donde se alcanzó el pico en los casos confirmados. Hasta la semana epidemiológica 45 del 2016 se registró decremento en la tendencia de los casos confirmados (76).

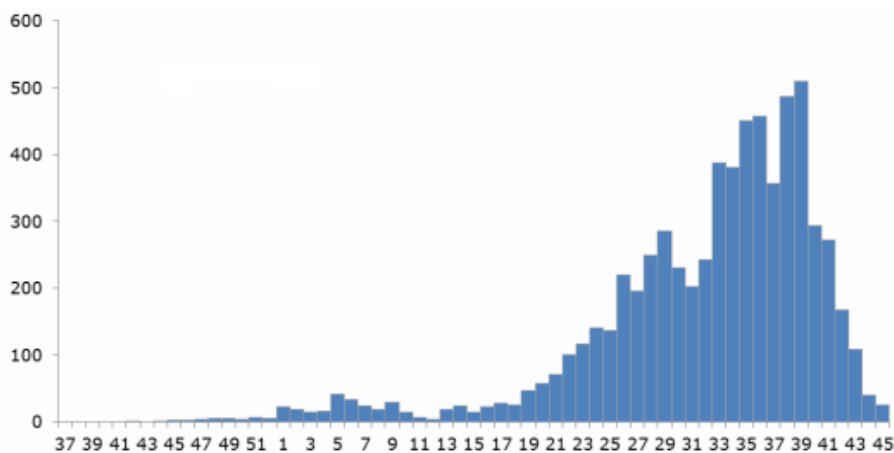


Figura 2.-Curva de casos confirmados por semana epidemiológica hasta la SE 45 2016 (76).

No se cuenta con la actualización de la tendencia en los casos tanto confirmados como probables y la relación que guarda con el perfil clínico de presentación en las fases pre-epidémica, epidémica y endemo-epidémica. El cálculo de los estimadores descriptivos de la

epidemia en México permitirá conocer la dinámica de la infección durante el periodo 2015-2016.

El análisis filodinámico del ZIKV es un modelo de estudio que permite incorporar datos para caracterizar la epidemiología del virus, que complementan la información obtenida a través de los sistemas de vigilancia convencional. El análisis de información genética, los patrones de cambio en el tiempo y el espacio permitirán conocer detalles de la transmisión del virus y caracterización de la epidemia.

La combinación de la información obtenida a través de la vigilancia convencional y de las secuencias genéticas de los virus circulantes permitirá calcular estimadores epidemiológicos que ayudarán a caracterizar la epidemia. La integración de esta información al conocimiento actual contribuirá a reconocer cambios en el comportamiento del brote así como las vías de introducción de nuevas cepas e identificar las acciones que se deben de tomar para predecir y prevenir sus consecuencias.

No se cuenta con análisis de tipo filodinámico para ZIKV en México. Obtener esta información con el modelo Bayesiano se propone como una línea de base para la vigilancia epidemiológica que se enriquecerá con los datos generados en el tiempo, permitiendo hacer comparaciones entre el comportamiento del brote en el país en diferentes momentos, así como lo que ha ocurrido en otras regiones del planeta.

5.-Objetivos

Descripción epidemiológica de los casos confirmados por laboratorio del brote en México, utilizando estimadores clásicos y moleculares.

Objetivos Específicos Epidemiología Clásica

- a) Descripción de la incidencia de los casos confirmados por laboratorio del brote en México durante el periodo 2015-2016.
- b) Descripción de las razones para las variables sexo, edad y sintomatología predominante, de los casos confirmados por laboratorio del brote en México durante el periodo 2015-2016.
- c) Cálculo de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de los síntomas que componen la definición operacional del periodo 2015-2016 para los casos confirmados por laboratorio en México.
- d) Desarrollo y descripción de la curva epidémica de los casos confirmados por laboratorio del brote en México durante el periodo 2015-2016.
- e) Cálculo de número básico de reproducción (R_0) de los casos confirmados por laboratorio en México durante el periodo 2015-2016.

Objetivos Específicos Epidemiología molecular

- a) Construcción de árbol filogenético de las secuencias publicadas de aislamientos del ZIKV.
- b) Cálculo y descripción de estimadores filodinámicos del brote en América y México.
- c) Cálculo de número básico de reproducción (R_0) mediante el análisis Bayesiano de las secuencias de ZIKV.
- d) Análisis filogeográfico de la dispersión del ZIKV en América.

6.-Material y métodos

Tipo de Estudio

Estudio observacional de tipo transversal analítico. Se calcularán medidas de frecuencia y variables: sexo, edad, estado asignado, fecha de inicio de síntomas, sintomatología predominante.

Población en estudio

Se analizó información de los casos confirmados de infección por ZIKV y casos confirmados en embarazadas, tomados a partir del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, con información oficial al cierre del año 2016.

Se utilizará el total de secuencias de genomas completos de ZIKV depositadas en el banco de datos GenBank con corte al 30 de enero 2017, que cuenten con la fecha y localización de aislamiento para el análisis filogeográfico.

Descripción de variables

Las variables que se utilizarán serán colectadas a partir de la información obtenida de la base de datos de infección por virus Zika del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica con información al cierre del año 2016. (*Ver cuadro de operacionalización de variables*)

Procesamiento de información

Se realizará la depuración a la base, usando las variables que se necesitan para el presente estudio con la herramienta Excel[®]. Posteriormente, a través de la herramienta EpiInfo7[®], se calcularán y graficarán razones, tasas, frecuencias y curva epidémica considerando la fecha de inicio de síntomas.

Se calculó la incidencia, razones de las variables sexo, edad, estado asignado, fecha de inicio de síntomas, sintomatología predominante y comorbilidades. Se describirá la caracterización clínica de los casos confirmados por laboratorio de las fases que componen el brote en México representado en la curva epidémica.

Se construyó árbol filogenético que se utilizará para el análisis Bayesiano de la filodinámica del ZIKV y su filogeografía.

Las secuencias que se utilizarán se descargarán en formato FASTA[®], desde el sitio electrónico del programa BLAST[®], seleccionando aquellas que cumplan los criterios de homología para un mejor análisis filogenético. Se utilizará el programa CLUSTAL X[®] para la construcción del alineamiento con diferentes valores de penalización para la información faltante o no concordante.

Con el alineamiento obtenido de CLUSTAL X[®], se construirán y compararán los árboles clave obtenidos mediante los métodos Bayesiano, de máxima verosimilitud y *neighbor joining*. El

árbol clave se utilizará en el análisis e inferencia Bayesiano con los algoritmos del programa BEAST® para la descripción filodinámica de los objetivos específicos.

Se realizará análisis filogeográfico de la dispersión de ZIKV en México con la estimación de variables epidemiológicas y espaciales. Mediante el software SPREAD® se obtendrá una representación gráfica con la descripción obtenida del análisis filogeográfico de la dispersión del ZIKV en América y México.

7.-Consideraciones éticas y de bioseguridad

Dado que se trata de una investigación observacional, sin intervención sobre los sujetos de estudio y sin riesgo, se consideró la dispensa del Consentimiento Informado (Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Art. 23) (77).

Se mantendrá confidencialidad en la información contenida en las bases de datos que se usarán en la descripción del brote, pertenecientes al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de México.

8.-Recursos materiales y humanos

Base de datos de infección por virus Zika del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, con información oficial al cierre del año 2016.

Base de datos del Laboratorio de Arbovirus y Virus Hemorrágicos del InDRE, con información de secuencias completas tomadas de aislamientos de casos autóctonos en México.

Base de datos pública (GenBank) con secuencias completas del virus Zika depositadas corte febrero 2017.

Paquetes de software para la recolección y análisis de datos (EXCEL®, EPI INFO®, CLUSTAL X®, MUSCLE®, BEAST®, SPREAD®)

Hardware con capacidad de analizar los datos contenidos en las secuencias. Laboratorio de Bioinformática, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Médico residente de epidemiología del Programa Único de Especialidades Médicas UNAM.

9.- Limitantes

El Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vectores (43) tiene como objetivo general describir procedimientos que permitan la obtención de información epidemiológica de calidad que oriente la implementación de las acciones de prevención y control. El porcentaje de muestreo para los casos probables de infección por ZIKV potencialmente implica pérdida de representatividad en los datos obtenidos de los casos confirmados por laboratorio.

Sin embargo el Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vectores (43) está de acuerdo a las disposiciones en materia de vigilancia epidemiológica establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014 (78), para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector, la cual a su vez es equivalente con los lineamientos y

recomendaciones que han emitido y difundido la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud.

10.-Resultados

La base de datos proporcionada por la Dirección de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Transmisibles de la Dirección General de Epidemiología contenía 91, 715 registros probables, de los cuales hay 19,902 con resultado valido de laboratorio (positivo o negativo).

Los registros con diagnóstico por laboratorio fueron 11,313 (56.84%) para los negativos y 8,589(43.15%) los positivos. Eliminando registros cuya información no era completa (estado asignado) para el análisis resultan 19,866.

Descripción de casos en 2015

Para 2015 se registraron 17 casos autóctonos con fecha de inicio de síntomas entre el 19 de octubre al 29 de diciembre. De acuerdo a entidad y sexo se distribuyeron de acuerdo a la tabla 1.

Tabla 1 Casos de ZIKV confirmados por entidad en 2015

Entidad	Mujeres	Hombres	Total
Chiapas	4	5	9
Nuevo León	2	2	4
*No aplica: Importado	Sin casos	2	2
Jalisco	Sin casos	1	1
Oaxaca	1	Sin casos	1

*No se tiene información sobre la entidad de reporte de los casos importados.

El rango de edad fue de 8 a 90 años con un promedio de 35. Las características de los casos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2 Edad en casos de ZIKV confirmados en 2015

Sexo	Edad Promedio	Rango edad
Mujeres	41	8-90
Hombres	31	11-50

Fue posible detectar a los casos sintomáticos a partir de la SE 42(1 caso). En las semanas 47 a la 49 se confirmaron cinco casos, distribuidos geográficamente tanto en el norte del país (Nuevo León) como en el sur (Chiapas).

De acuerdo con información del SINAVE, el primer caso confirmado se presentó durante la SE 42 (19/10/2015) EN Monterrey, Nuevo León en un masculino de 22 años con los siguientes signos y síntomas: fiebre de 39°, cefalea, mialgias, artralgias, dolor retroocular, exantema, conjuntivitis.

El segundo caso confirmado, femenino de 15 años, inició síntomas en la SE 45, el 11 de noviembre de 2015 en San Nicolás de los Garza, Nuevo León a 9 km de Monterrey. Sus síntomas fueron fiebre, cefalea, mialgias, poliartralgias y conjuntivitis.

En la misma SE 45, el 13 de noviembre de 2015 en Guadalajara, Jalisco a 841 km de Monterrey inicia síntomas el tercer caso confirmado. Se trata de un masculino de 35 años que presenta fiebre, cefalea, mialgias, poliartralgias, exantema y conjuntivitis.

En diciembre de 2015, la Dirección General de Epidemiología publica la primera versión de los *Lineamientos para Vigilancia Epidemiológica de la Infección por virus Zika* en los cuales se considera caso sospechoso a toda persona que presente cuadro febril agudo más la presencia de exantema máculopapular y conjuntivitis (no purulenta) y se acompañe de uno a más de los siguientes: mialgias, artralgias, cefalea o dolor retroocular, y que se identifique alguna asociación epidemiológica (presencia del vector *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus*, o antecedente de visita o residencia en áreas de transmisión en las dos semanas previas al inicio del cuadro clínico, o existencia de casos confirmados en la localidad).

Para el cierre de 2015, 14 de los 17 casos presentaron los tres principales datos clínicos contenidos en la definición operacional de caso sospechoso: 16 (94%) fiebre, 15 (88%) cefalea, 14 (82%) conjuntivitis, 14(82%) mialgias, 13 (76%) exantema, 10 (58%) prurito, 7 (47%) dolor retroocular y 7 (47%) artralgias.

En Febrero de 2016, se publicó la segunda versión de los *Lineamientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico por Laboratorio de Infección por Virus Zika* en los cuales se considera como caso probable a toda persona que presente cuadro febril agudo más la presencia de exantema maculopapular y conjuntivitis (no purulenta) y se acompañe de uno a más de los siguientes signos o síntomas: mialgias, artralgias, cefalea o dolor retroocular, y que se identifique alguna asociación epidemiológica.

En esta versión, tras la discusión colegiada en el grupo de trabajo de Enfermedades Transmisibles del Grupo Técnico Interinstitucional del Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica se decidió la inclusión de una definición operacional para el caso de las mujeres embarazadas que presenten sintomatología sugestiva de la infección. Se considera como probable la infección en toda mujer embarazada que presente dos o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, exantema, conjuntivitis (no purulenta), cefalea, mialgias, artralgias o dolor retroocular, y que se identifique asociación epidemiológica.

El 14 de mayo de 2016 se actualiza la definición operacional para los casos probables de infección por virus Zika clasificando como probable a todo paciente que presente exantema (generalmente maculopapular y pruriginoso) y al menos dos o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre, cefalea, conjuntivitis (no purulenta/hiperemia), artralgias, mialgias, edema periarticular, prurito, dolor retroocular; y que se identifique alguna asociación epidemiológica (presencia del vector *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus*, o antecedente de visita o residencia en áreas de transmisión en las dos semanas previas al inicio del cuadro

clínico, o existencia de casos confirmados en la localidad, o tenga antecedente de contacto sexual sin protección en las 2 semanas previas a la aparición de los síntomas, con una persona que en las 8 semanas previas al contacto sexual tenga antecedente de residencia o viaje a un área con transmisión local del ZIKV o con presencia de vectores.

Las diez entidades con mayor número de casos confirmados de ZIKV en 2016 se desglosan en la tabla 3.

Tabla 3 Diez entidades con mayor número de casos en 2016.

Entidad	Casos
Veracruz	1,966
Yucatán	1,283
Guerrero	861
Nuevo León	844
Chiapas	796
Oaxaca	506
Quintana Roo	380
Tabasco	354
Morelos	301
Colima	294

Los estados que mayor número de casos registraron en 2016 fueron en orden decreciente Veracruz, Yucatán, Guerrero, Nuevo León, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Morelos y Colima.

Los estados que mayor número de casos registraron en hombres fueron Veracruz, Guerrero, Yucatán, Chiapas y Oaxaca.

Los estados que mayor número de caso registraron en mujeres fueron Veracruz, Yucatán, Nuevo León, Guerrero y Chiapas.

Al analizar las entidades con mayor número de casos en 2016 con respecto al tiempo que transcurre hasta la búsqueda de atención médica o la obtención del resultado de laboratorio se obtiene la tabla 4

Tabla 4 Días transcurridos hasta obtención de resultado por laboratorio

Entidad	Días promedio inicio de síntomas- inicio estudio	Rango días inicio de síntomas- inicio estudio	Días promedio inicio de estudio a fecha de resultado	Rango inicio de estudio a fecha de resultado	Días promedio inicio de síntomas a toma de muestra	Rango inicio de síntomas a toma de muestra
Veracruz	2	0-30	4	0-31	2	0-29
Yucatán	2	0-31	23	0-31	2	0-31
Guerrero	2	0-31	27	0-30	3	0-31
Nuevo León	2	0-22	13	1-31	2	0-24
Chiapas	2	0-31	2	0-31	3	0-31
Oaxaca	2	0-20	14	0-31	2	0-14
Quintana Roo	1	0-8	7	1-29	2	0-8
Tabasco	3	0-29	6	0-30	3	0-29
Morelos	2	0-9	5	0-26	2	0-11
Colima	1	0-15	31	1-30	2	0-16

Las entidades que mayor tasa de incidencia por 100,000 habitantes reportaron, se desglosan en la tabla 5.

Tabla 5 Entidades con las diez tasas de incidencia más elevadas durante 2016.

Entidad	Tasa 100,000 habitantes.
Yucatán	59.7
Colima	39.9
Veracruz	24.2
Guerrero	23.9
Quintana Roo	23.4
Nuevo León	16.3
Morelos	15.4
Chiapas	14.9
Tabasco	14.7
Oaxaca	12.5

Los cinco estados con mayor tasa de incidencia por sexo en 2016 se desglosan en la tabla 6.

Tabla 6 Entidades con las primeras cinco tasas de incidencia acumulada por 100,000 habitantes por sexo

Entidad	Tasa hombres	Entidad	Tasa mujeres
Yucatán	11.2	Yucatán	106
Veracruz	8.18	Veracruz	39.3
Guerrero	8.17	Guerrero	38.8
Colima	6.89	Nuevo León	29.4
Oaxaca	4.92	Chiapas	25.7

Las tasas de incidencia por 100,000 para las SE 25 de 2016 y al cierre de ese año se muestran en un mapa coroplético en las figuras 3 y 4 respectivamente.



Figura 3 Mapa coroplético tasa de incidencia SE25 2016



Figura 4 Mapa coroplético tasa de incidencia 2016

La sintomatología de los casos confirmados y sus valores hasta la SE 25 están en la tabla 7.

Tabla 7 Estimadores de la definición operacional en casos confirmados de ZIKV hasta la SE 25.

Síntoma	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Exantema	95.3	12.5	45.7	77.6
Cefalea	81	16.2	42.8	52.5
Prurito	81	32.8	48.3	69
Conjuntivitis	79.1	23.2	44.4	59
Fiebre	76	13.8	40.6	42.6
Mialgia	75.4	18.3	41.7	49
Artralgia	70.9	27.9	43.3	55.2
Dolor retroocular	48.7	47.6	42	54.4

La sintomatología y sus valores están para la SE 52 en la tabla 8.

Tabla 8 Estimadores de la definición operacional en casos confirmados de ZIKV 2016.

Síntoma	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Exantema	96.4	6	43.8	68.9
Cefalea	80.4	17.2	42.5	53.6

Mialgias	73.6	21.9	41.8	52.1
Prurito	67.9	32.7	43.5	57.2
Fiebre	67.7	25.7	40.9	51.2
Artralgias	63.3	31.5	41.4	53
Conjuntivitis	51	42.8	40.5	53.4
Dolor retroocular	46.1	53	42.3	55.8

Al analizar mediante el test de chi cuadrada si las diferencias entre las proporciones de los casos antes-después de la SE 25 se obtuvieron los resultados de “p” para cada síntoma contenidos en la tabla 9.

Tabla 9 Significancia test chi cuadrado

Síntoma	P
Fiebre	0.000
Dolor retroocular	0.038
Artralgias	0.000
Prurito	0.000
Conjuntivitis	0.000
Exantema	0.049
Mialgias	0.125
Cefalea	0.476

La proporción en la que se presentan la fiebre, el dolor retroocular, las artralgias, el prurito, conjuntivitis y exantema tienen diferencias estadísticamente significativas de acuerdo a si los casos se reportaron antes-después de la SE 25 de 2016.

Distribución de casos por región

Con la finalidad de aportar elementos sobre las diversas condiciones económicas y sociales que caracterizan a la población a lo largo y ancho del territorio nacional, el Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI), ofrece un resumen comparativo de las entidades federativas, los municipios y las áreas geoestadísticas básicas, que sintetiza en siete estratos distintos, información captada por el XII Censo General de Población y Vivienda 2000 (79), relacionada con aspectos de bienestar, tales como educación, empleo, ocupación, vivienda y salud.

- 1.- Chiapas, Guerrero, Oaxaca
- 2: Campeche, Hidalgo, Puebla, San Luis Potosí, Tabasco, Veracruz
- 3: Durango, Guanajuato, Michoacán, Tlaxcala, Zacatecas.
- 4: Colima, EdoMex, Morelos, Nayarit, Querétaro, Quintana Roo, Sinaloa, Yucatán

5: Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Sonora, Tamaulipas

6: Aguascalientes, Coahuila, Jalisco, Nuevo León.

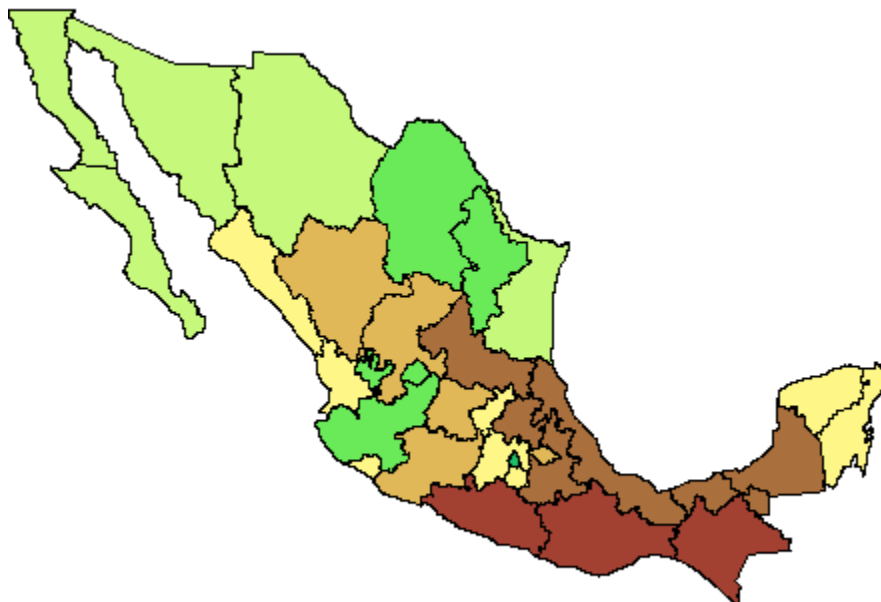


Figura 5 Mapa con regiones INEGI

El número de casos reportado por región se desglosa en la tabla 10.

Tabla 10 Casos por región INEGI, ZIKV 2016

Región	Casos 2016
Región 2	2,752
Región 4	2,366
Región 1	2,163
Región 6	993
Región 5	197
Región 3	62

Las tasas por región INEGI para la SE25 de 2016 y cierre de ese año se desglosan en la tabla 11 y 12 respectivamente.

Tabla 11 Tasas SE 25 por región INEGI, ZIKV 2016

Región	Tasa General	Tasa Hombres	Tasa Mujeres
Región 1	7.31	2.18	12.1
Región 2	0.74	0.44	1.02
Región 3	0.21	0.13	0.29
Región 4	0.36	0.06	0.65
Región 5	0.027	0	0.05
Región 6	0.049	0.03	0.06

Tabla 12 Tasas por región INEGI ZIKV, 2016

Región	Tasa General	Tasa Hombres	Tasa Mujeres
Región 1	16.7	5.30	27.4
Región 2	11.7	3.51	19.5
Región 3	0.99	0.39	1.55
Región 4	22.1	4.03	39.7
Región 5	2.68	0.71	4.63
Región 6	5.68	1.38	9.85

Al explorar mediante el test de chi cuadrada si las diferencias entre los porcentajes de presentación de los casos entre las regiones INEGI se obtuvo un valor de chi cuadrada de Pearson de 2655 con significancia estadística menor a 0.005.

Curva epidémica 2015-2016

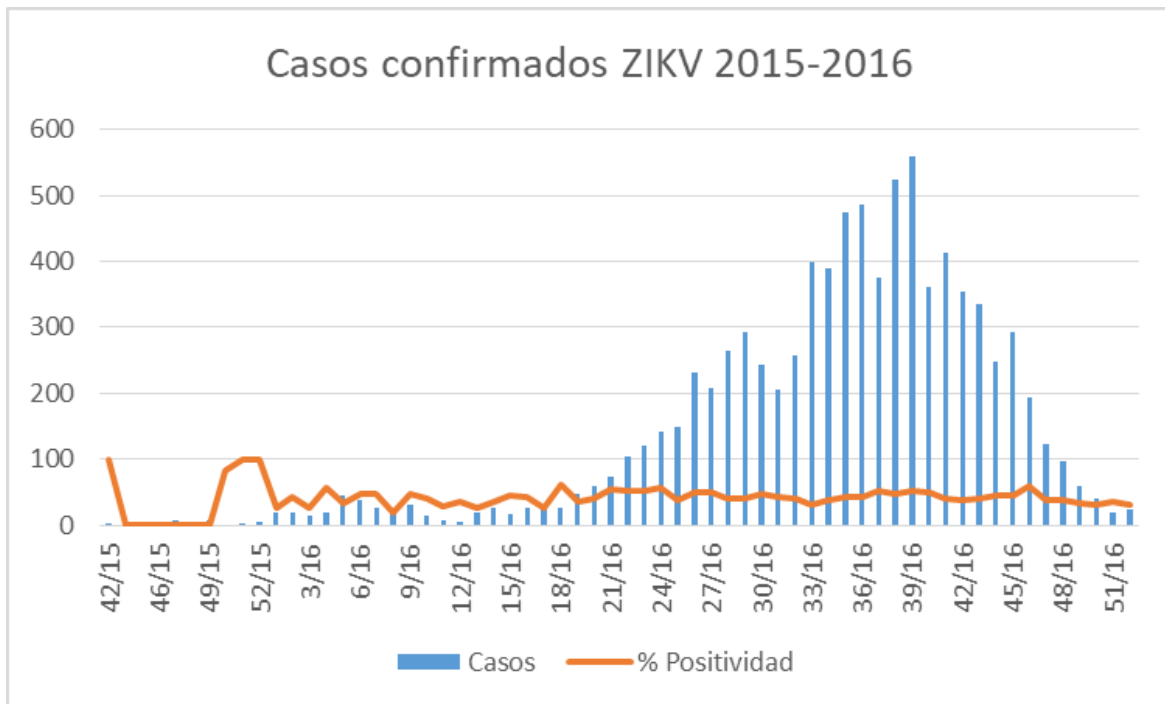


Figura 6 Curva epidémica casos confirmados ZIKV 2015-2016

El periodo pre epidémico se encuentra anterior a la semana epidemiológica 42 cuando el primer caso confirmado en México se notifica en Nuevo León. A partir de esa fecha se inicia el periodo epidémico con transmisión viral autóctona y activa con presencia de más de un caso en personas que no hayan salido del país.

El escenario endemo epidémico con la presencia de transmisión viral autóctona sostenida con presencia de más de un caso en personas que no hayan salido de México. Para la semana 47 el virus circulaba en tres entidades diferentes: Nuevo León, Jalisco y Chiapas con una distancia de 2, 167 km entre Guadalajara y Tapachula.

A partir de la semana 20 se observa un incremento sostenido en la notificación de los casos. Esta fecha coincide con el inicio de la temporada de huracanes de 2016.

Análisis Filogenético

Con el motor de búsqueda "Zika complete" se encontró 282 secuencias en la base de datos GenBank, las cuales se aislaron entre 1947 y 2016 de acuerdo a la figura 7.

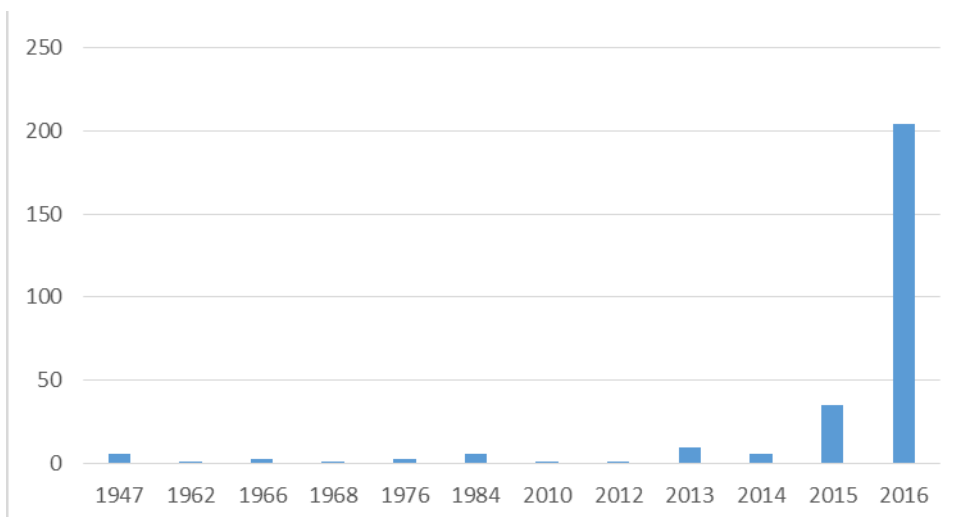


Figura 7 Secuencias publicadas en GenBank por año

La distribución de las secuencias por país se desglosa en la tabla 13, cinco de las 282 secuencias no contenían información.

Tabla 13 Secuencias por país

País	#Secuencias
Estados Unidos	54
Brasil	43
República Dominicana	27
China	19
Honduras	16
México	15
Colombia	12
Nicaragua	12
Polinesia Francesa	11
*Puerto rico, Senegal, Tailandia, Uganda	6
*Jamaica, Panamá, Venezuela	4

*Malasia, República Centroafricana, Surinam, Guatemala	3
*Ecuador, Haití, Italia, Martinica, Perú, Singapur	2
Tonga, Cambodia, Filipinas, Guadalupe, Guyana Francesa, Nigeria, Samoa	1

**Cada uno de los países en las celdas reportó el número de secuencias de la columna correspondiente. Fuente GenBank*

De las 282 secuencias, 238 provenían de muestras humanas, 31 de mosquitos del género *Aedes*, en 8 no se reporta y en 5 fueron primates.

Se establecieron las distancias evolutivas entre las 282 secuencias mediante la similitud que guardan las huellas genéticas generadas mediante el método de hibridación virtual.

Se generó la construcción filogenética en MEGA versión 7 mediante neighbor joining y se exportó a la plataforma ITOL para su manejo.

El cladograma que se obtiene de las 282 secuencias es el ilustrado por la figura 8.

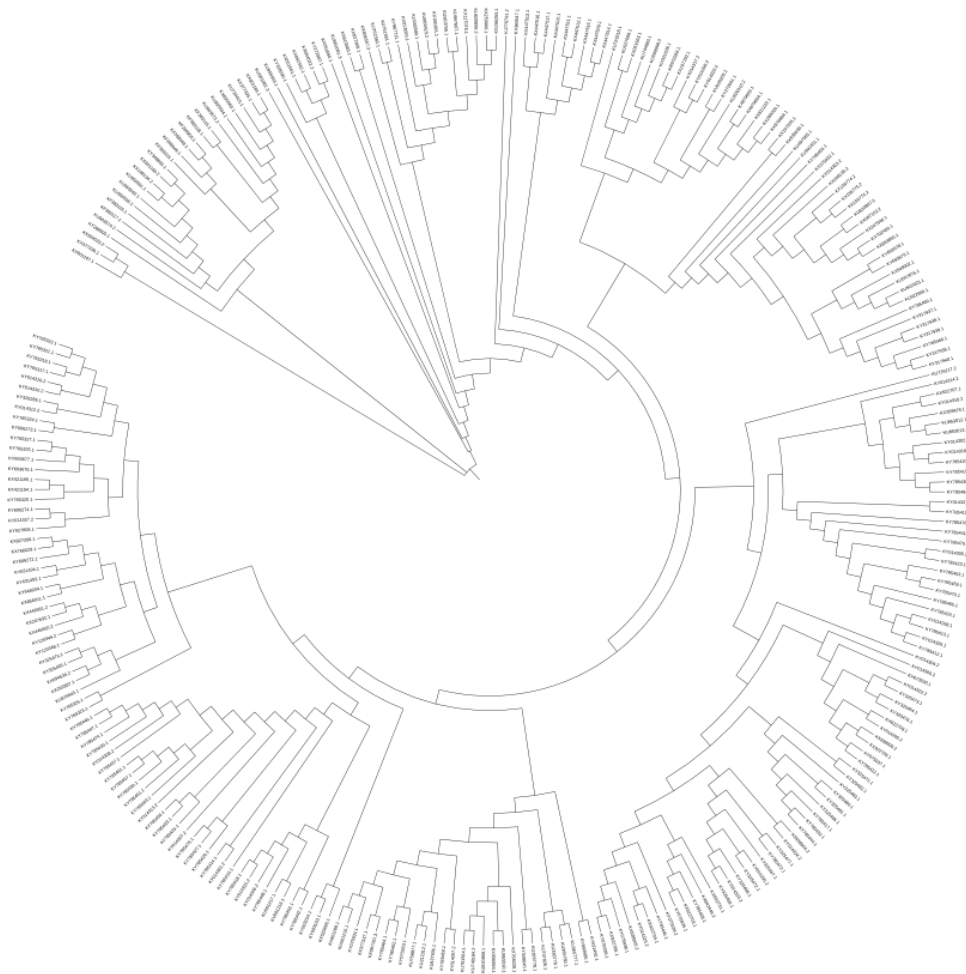


Figura 8 Cladograma 282 secuencias ZIKV

Los países en que se aislaron las secuencias seleccionadas para el análisis posterior y su número mostraron la distribución de la tabla 14.

Tabla 14 Secuencias por país usadas para análisis Bayesiano.

País	# Secuencias
Brasil	6
Estados Unidos	5
México	4
Colombia, Senegal	3

Honduras, Polinesia Francesa, Puerto Rico, Uganda	2
Australia/tonga, China, Filipinas, Haití, Martinica , Nicaragua, Nigeria, Panamá, Perú, Tailandia	1

En azul están señaladas 39 secuencias que se eligieron para el análisis filodinámico de tipo Bayesiano, se ilustran en la figura 9.

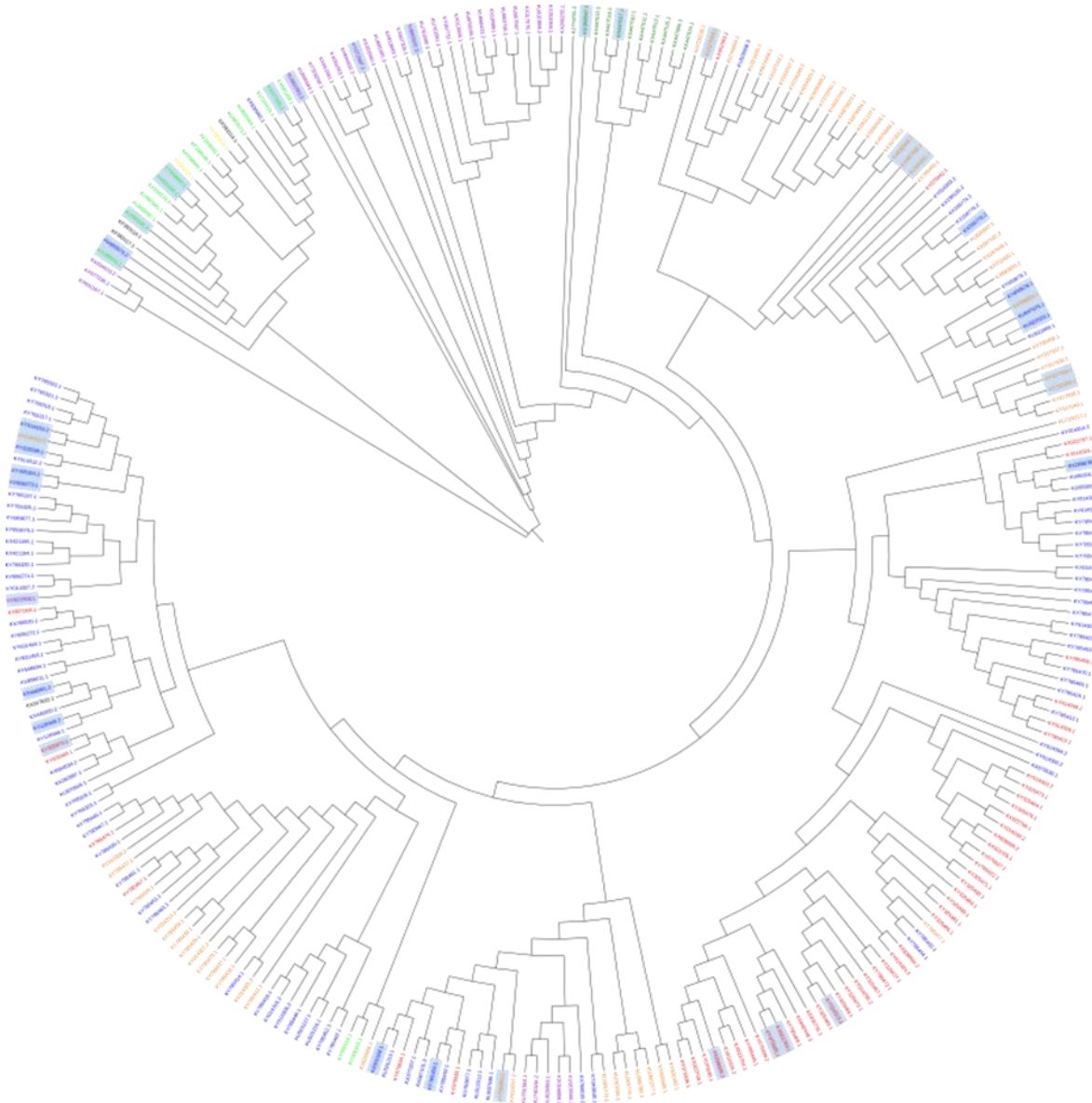


Figura 9 Cladograma con identificación de las secuencias usadas en análisis Bayesiano.

Cuando se relaciona el lugar de aislamiento de las secuencias y su relación evolutiva se observa el siguiente cladograma, cada secuencia está clasificada con la guía de colores de la tabla 15.

Tabla 15 Código de colores usados en cladograma para reconocimiento por origen

Región	Color
Estados Unidos	Rojo
Brasil/Colombia/Ecuador/Venezuela	Amarillo
Polinesia Francesa	Verde oscuro
Centroamérica	Azul oscuro
Asia	Púrpura
África	Verde brillante

La filogenia que se construyó mediante *neighbor joining* con las 39 secuencias alineadas en MUSCLE está contenida en el cladograma de la figura 10.



Figura 10 Cladograma obtenido por *neighbor joining* de las secuencias usadas en el análisis Bayesiano

Del análisis skyline efectuado en BEAST para el estudio del cambio en la población viral a través del tiempo se usó el modelo de sustituciones HKY, sin heterogeneidad por sitio, se obtienen los estimadores de la tabla 16.

Tabla 16 Estimadores filogenéticos del análisis skyline

Estimador	Valor
Media	137
Error std de la media	0.53
Desviación std	11.2

Varianza	125
Mediana	135
Moda	n/a
Media geométrica	136
Inérvalo de densidad posterior 95%	[115.13, 158.25]
Tiempo de auto correlación	92,368
Tamaño efectivo de la muestra	433

Con los estimadores anteriores se calcula el TMRCA tomando 137.04 como valor medio, 115.13 como valor inferior y 158.25 como valor máximo. De acuerdo a este cálculo el virus Zika comenzó su circulación entre los años 1858 y 1901. Como valor medio se obtiene el año 1879.

El modelo demográfico skyline muestra que el tamaño de la población viral cambia a través del tiempo.

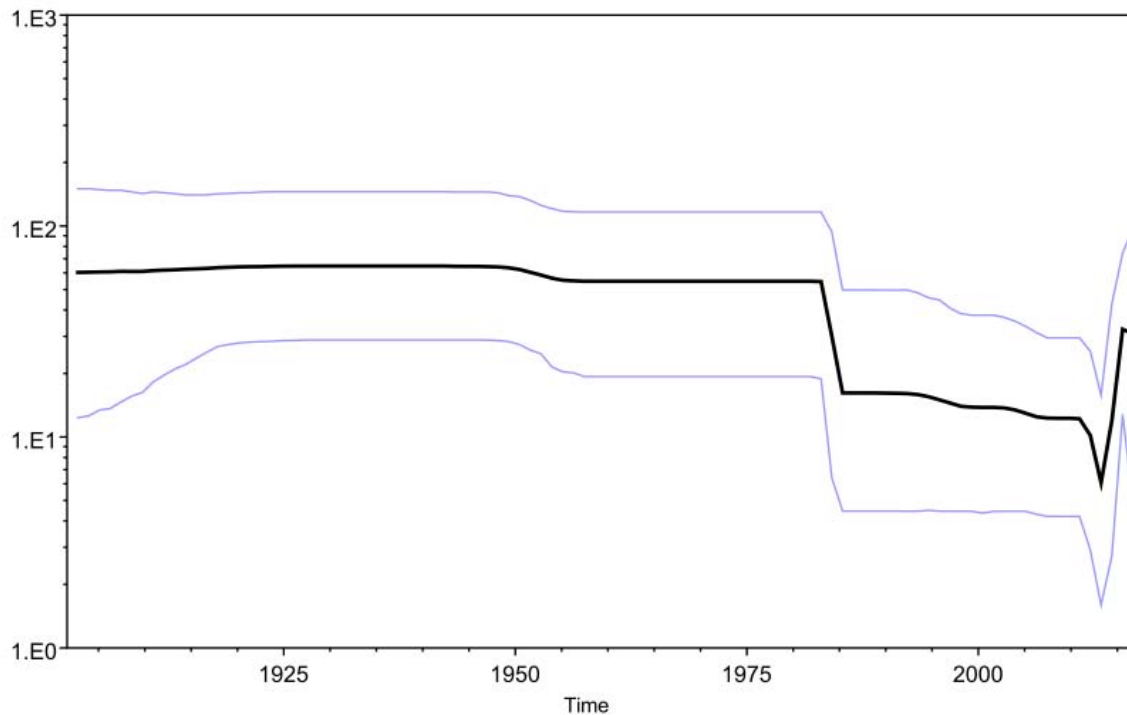


Figura 11 Modelo demográfico tamaño de población en el tiempo

La reconstrucción grafica del análisis muestra que el cálculo de la población viral se mantuvo constante en los primeros años del siglo XX, alrededor de 1975 se observa un decremento seguido de un pico en el tamaño de la población viral alrededor del año 2010 hasta la fecha. Este incremento en la población viral coincide temporalmente con el reporte de los casos y brotes en la región del pacifico y continente americano.

El árbol filogenético por máxima credibilidad (MCC) obtenido del análisis demográfico skyline se muestra en la figura 12.

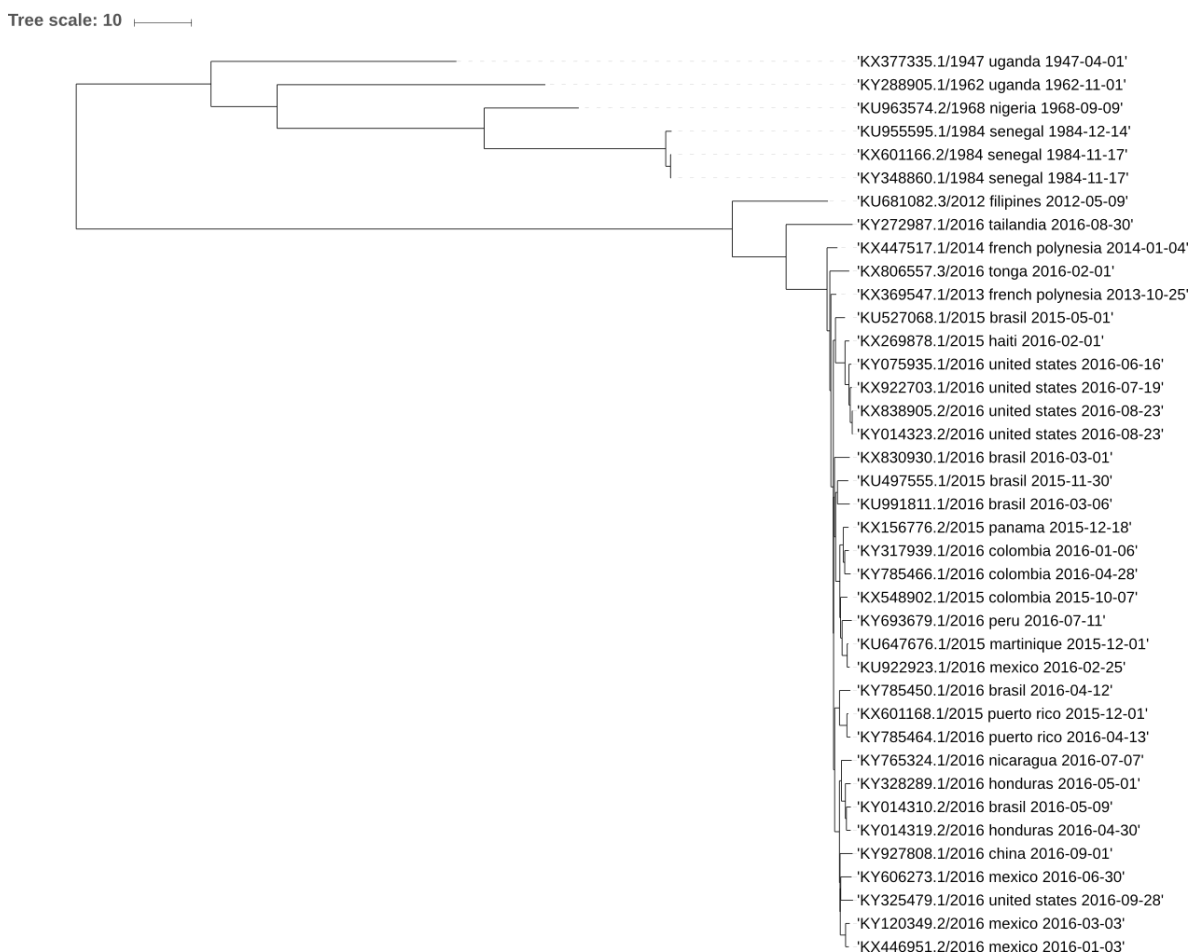


Figura 12 Árbol filogenético construido por máxima credibilidad para el clado

En el árbol se observa la separación entre las secuencias aisladas en África y Asia. Las secuencias del continente americano se agrupan filogenéticamente cercanas a las asiáticas.

La cepa aislada en Filipinas en 2012 tiene origen común con las de Tailandia (2016) y Polinesia Francesa (2013-2014). Las secuencias del continente americano derivan del origen común asiático y se agrupan temporal y espacialmente como se aprecia en la figura 9.

Las secuencias tomadas del mismo país en diferentes momentos (Brasil, Colombia, México, Puerto Rico) comparten el origen filogenético asiático sin embargo existen diferencias suficientes como para que se separen en diferentes clados como se ve en la figura 9, 12 y 13.

En relación a las cepas mexicanas la cepa KU922923.1 aislada en Chiapas está más cercana a las aisladas en Perú (KY693679.1) y Martinica (KU647676.1) que una de las aisladas en

Chiapas (KY120349.2) la cual tiene más semejanza con algunas de Brasil(KY014310.2), Honduras(KY014319.2) y Estados Unidos(KY325479.1).

Con el propósito de hacer un cálculo similar al obtenido para el análisis de las 39 secuencias anteriores, se seleccionaron 24 secuencias del continente americano relacionadas espacial, temporal y filogenéticamente para el cálculo del estimador TMRCA.

La filogenia construida mediante *neighbor joining* después del alineamiento en MUSCLE se observa en la figura 13.

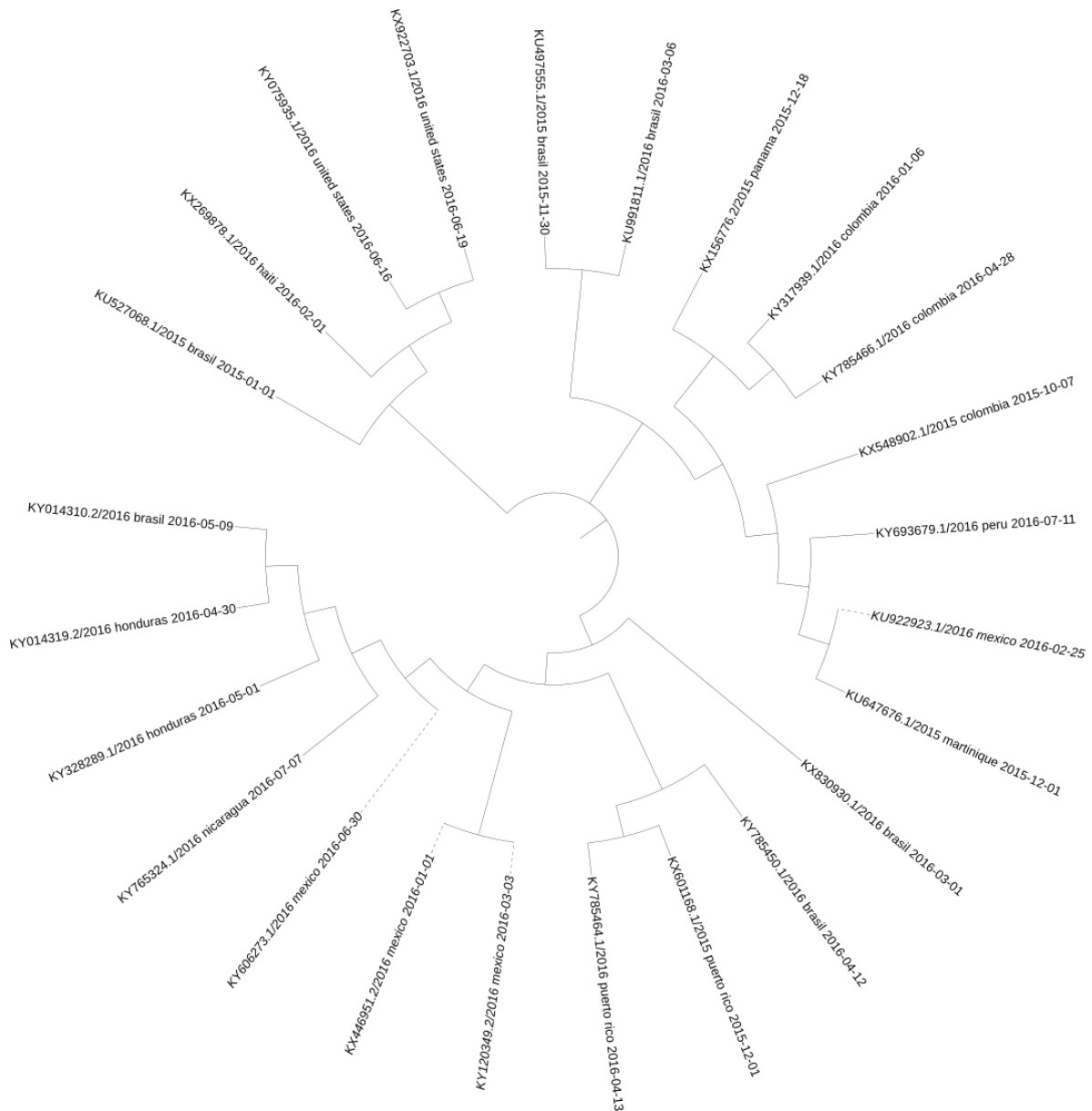


Figura 13 Cladograma obtenido por *neighbor joining* de las secuencias espacial y temporalmente relacionadas a las circulantes en México.

Del análisis skyline efectuado en BEAST para el estudio del cambio en la población viral a través del tiempo se usó el modelo de sustituciones HKY, sin hererogeneidad por sitio, se obtienen los estimadores de la tabla 17..

Tabla 17 Estimadores filogenéticos de análisis skyline secuencias de américa

Estimador	Valor
Media	3.94
Error std de la media	0.16
Desviación std	3.83
Varianza	14.6
Mediana	3.34
Moda	n/a
Media geométrica	3.56
Inervalo de densidad posterior 95%	[1.92, 6.48]
Tiempo auto correlación (ACT)	83,451.14
Tamaño efectivo de muestra (ESS)	539.53

Con los estimadores anteriores se calcula el TMRCA tomando 3.94 como valor medio, 1.92 como valor inferior y 6.48 como valor máximo. De acuerdo a este cálculo el virus Zika que se encuentra en américa comenzó su circulación entre 6.4 a 1.9 años antes del 2016.

El arreglo filogenético por máxima credibilidad para las 24 secuencias del continente americano se representa en la figura 14. Las secuencias mexicanas consideradas están señaladas con una línea punteada.

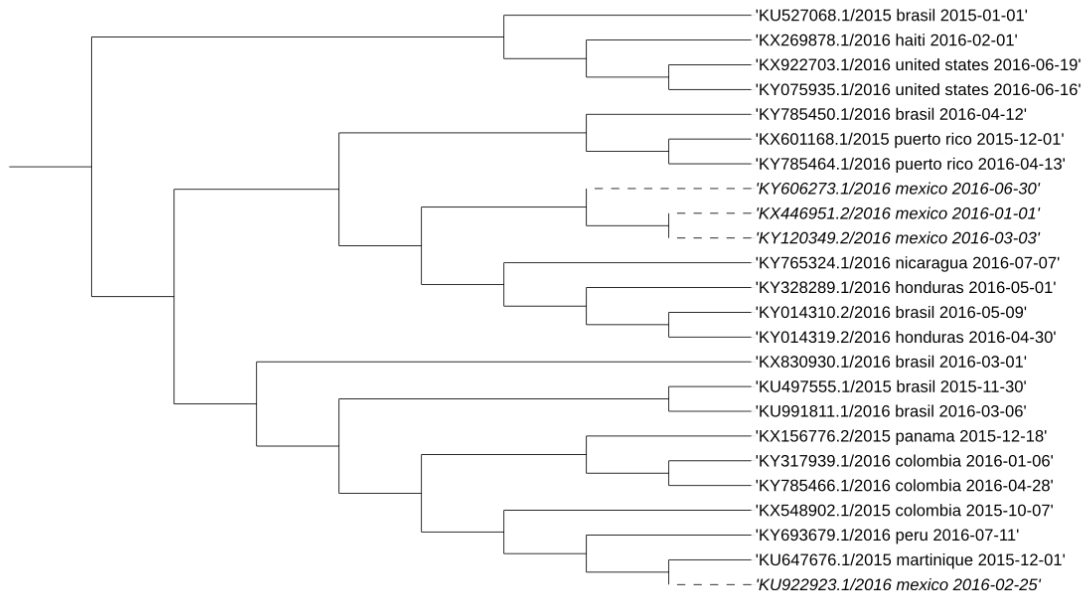


Figura 14 Árbol filogenético obtenido por máxima credibilidad del clado para las secuencias de américa

En la construcción filogenética se pueden observar las cercanas relaciones que existen entre los aislamientos del continente americano y como se observó en la figura 12, la distancia que existe entre aislamientos del mismo país obtenidas en diferentes momentos y regiones como el caso de México. La arquitectura que adopta el árbol, con múltiples ramificaciones y limitada distancia genética sugiere la transmisión sostenida con intermitente introducción del virus a poblaciones inmunológicamente susceptibles.

11.- Discusión

En los primeros meses del 2016 se contabilizaron cerca de un billón de viajeros internacionales en el mundo. De acuerdo a la Secretaria de Turismo y con datos de la Organización Mundial de Turismo (OMT) durante 2016 México recibió 35 millones de turistas internacionales, con lo que ocupó el segundo lugar en el continente americano (después de Estados Unidos) y octavo lugar mundial.

Las crisis humanitarias y económicas han favorecido el incremento en la migración, tanto regular como irregular, y con ella la de los patógenos entre países y continentes en cuestión de horas, lo cual supone un desafío para la detección de nuevos agentes en los sistemas de vigilancia epidemiológica.

La vigilancia epidemiológica y la inmigración están íntimamente relacionadas con el estudio de la transmisión de enfermedades ya que los patógenos circulantes en la población humana pueden viajar (intencionadamente o no) en su periodo de incubación o como un cuadro clínico establecido.

Los primeros casos de infección por ZIKV en Brasil se reportaron en mayo de 2015, pero la presencia de síntomas se remonta de febrero a abril, donde se reportaron 7,000 casos de enfermedad exantemática en los cuales en 13.8% se pudieron clasificar como infección por virus del dengue. El resto de los casos fueron negativos para Chikungunya, sarampión y rubeola. Como la infección por ZIKV no se sospechaba, no se realizaron pruebas para diagnosticarla (80).

Las estimaciones filogenéticas apuntan al final del año 2013 e inicios de 2014 cuando pudo haber comenzado la transmisión sostenida en Brasil. Este característico orden en los acontecimientos inicio de transmisión-inicio de detección es un fenómeno que se encontró en Honduras, Colombia, Puerto Rico y Estados Unidos (81).

El primer caso confirmado por laboratorio en México se reportó el 21 de octubre de 2015 en Nuevo León. Sin embargo, la fecha de colección de la primera secuencia del virus Zika del país (GenBank KY631493.1) corresponde al 15 de octubre de 2015 en Tapachula, Chiapas, a 2,051 km de distancia.

Desde mayo de 2015 el ZIKV está presente en muestras tomadas para la detección de enfermedades que comparten sintomatología con la enfermedad por ZIKV y desde inicios de ese año en el mosquito transmisor colectado y congelado como parte de las actividades de vigilancia entomoviológica (82).

Mediante el análisis de distancias encontradas en las secuencias por el método de huellas genéticas se encontró que la KY631493.1 mexicana es filogenéticamente cercana a la secuencia KX694534.2, la cual fue colectada en enero de 2015 en una paciente con antecedente de viaje a Honduras.

Lo anterior aporta evidencia de la cercanía filogenética y temporal de la presencia del ZIKV en dos diferentes países, cuyas fronteras no son respetadas por las enfermedades. El llamado de prestar especial atención a los puntos de entrada en un país (legales o ilegales) obedece al hecho de que el acceso de la población a los viajes internacionales intercontinentales se puede relacionar con la introducción de un virus filogenéticamente relacionado al circulante en otra región, la secuencia de China (KY927808.1) está situada en el árbol obtenido por MCC cercana a aislamientos de Puerto Rico, Nicaragua, Honduras

y México durante 2015 y 2016. De esta manera la vigilancia filogenética aporta evidencia sobre las posibles vías de entrada y a partir del análisis de su dispersión se podrán conocer los factores que llevan al cambio genético y patogénico del virus.

Estas evidencias, la semejanza filogenética entre la cepa de Chiapas KY631493.1 con la Hondureña KX694534.2, además de la presencia del virus en mosquitos vectores y muestras humanas colectadas en México en 2015, apuntan a que el ZIKV estaba circulando en México durante meses antes de que lo detectara el sistema de vigilancia epidemiológica, como sucedió en otros países del continente.

La Vigilancia Epidemiológica es una actividad dinámica que se ve apoyada por diferentes herramientas de información que ayudan a identificar y clasificar los casos que suceden en la población, en el presente trabajo se abordó la evidencia sobre la temporalidad y la geografía en el diagnóstico de los casos de infección por ZIKV.

La definición operacional de los casos sospechosos de ZIKV cumple el criterio de sensibilidad. Dentro de los casos confirmados hay componentes del territorio y temporales causantes de diferencias en su presentación, la construcción de una definición operacional flexible al cambio (como lo ha sido en México) es una fortaleza que permite adaptar la vigilancia de acuerdo a la evidencia.

La creciente accesibilidad a diferentes técnicas diagnósticas aporta la capacidad de decidir sobre cuál de ellas elegir de acuerdo al perfil epidemiológico de cada caso y la oportunidad para la toma de muestra necesaria. Considerar la información del tiempo transcurrido entre una exposición de riesgo y la búsqueda de atención médica podrá ayudar a decidir sobre una técnica serológica o genética en los escenarios donde esté disponible para mejora de la capacidad diagnóstica de un sistema de vigilancia epidemiológica..

Es tarea de los diferentes niveles administrativos de la salud ayudar en el análisis de la información local para identificar los componentes biológicos, ambientales y técnicos involucrados en el perfil epidemiológico regional tanto comunitario como personalizado desde el acceso al centro de salud hasta la susceptibilidad inmunogenética.

La situación del ZIKV atrajo la atención internacional por su asociación con la microcefalia, pero el estudio detallado de las mujeres embarazadas llevó a que más tarde las manifestaciones secundarias a la infección por ZIKV se agruparan como un síndrome congénito.

En México desde 2016 y hasta la SE 28 de 2017 se han identificado 5,314 casos de infección por ZIKV en mujeres embarazadas, de las cuales en 18% se registraron durante el primer trimestre de la gestación. En 2,190 de los casos se ha concluido el embarazo y de los 2,162 recién nacidos, en 52(2.4%) se han reportado anomalías congénitas de los cuales tres casos (0.13%) se han clasificado como síndrome congénito asociado a virus Zika.

De acuerdo a los datos del Registro de Embarazos para Zika de Estados Unidos de América, el 11% de las infecciones en el primer trimestre presentan defectos del nacimiento asociados con el ZIKV y tanto en las sintomáticas como en las asintomáticas en el 6% de las infecciones se presentan defectos al nacimiento (83). En un reporte de Brasil se encontraron anomalías oftalmológicas en 24 de 112 recién nacidos (21%) con evidencia por laboratorio de infección por ZIKV, 18 de ellos no tenían microcefalia ni otras malformaciones del sistema nervioso central (84).

En los casos bajo seguimiento, es necesario valorar la pertinencia de la búsqueda de las distintas manifestaciones congénitas (oftalmológicas, motoras, cardíacas) asociadas a ZIKV que se van sumando a la evidencia científica, además de la microcefalia. La comunicación de los hallazgos y la capacitación del personal encargado de la atención médica y vigilancia epidemiológica en los distintos niveles administrativos ayudarán a identificar de manera retrospectiva aquellos casos afectados que, por haber sido infecciones asintomáticas, no se detectaron anteriormente para la toma de acciones preventivas secundarias y terciarias reduciendo la carga de la enfermedad para México.

Conclusiones

La vigilancia epidemiológica filogenética de los patógenos transmitidos por vector permite establecer relaciones espaciotemporales tomando como punto de referencia la cercanía evolutiva que guardan las secuencias genéticas obtenidas de muestras humanas, animales y en sus vectores. El análisis de las diferencias de las secuencias de los virus circulantes en diferentes regiones permite calcular el momento en que se originó una variedad de virus y el momento en que se introdujo a una población inmunológicamente susceptible para orientar la búsqueda de casos y contención de complicaciones de forma prospectiva y retrospectiva.

Con este trabajo se consigue tener una línea de base de la filogenia del ZIKV circulante en México que permitirá detectar diferencias en las secuencias genéticas y si éstas corresponden a un patrón anormal en la velocidad de cambio que se relacione con un perfil inmunopatogénico o climático que pueda ser detectado en la triada ecológica.

Al complementar la información filogenética con el perfil socioeconómico y climático se caracteriza de manera regional el impacto de una infección de reciente introducción y permite tomar decisiones de prevención específicamente orientadas de acuerdo al perfil epidemiológico.

12.-Referencias

1. Saiz J, Vazquez-Calvo A, Blazquez A, et al. Zika Virus: the Latest Newcomer. *Frontiers in Microbiology*. 2016; 7(496).
2. Knipe D, Howley P. *Fields Virology*. 5th ed.: Lippincott-Raven Publishers; 2007.
3. Barzon L, Trevisan M, Sinigaglia A, et al. Zika Virus: From Pathogenesis to Disease Control. *FEMS Microbiology Letters*. 2016; 363(18).
4. Mukhopadhyay S, Kuhn R, Rossman M, et al. A structural perspective of the flavivirus life cycle. *Nature Reviews Microbiology*. 2005; 3.
5. Singh R, Dhama K, Malik Y, et al. Zika virus – emergence, evolution, pathology, diagnosis, and control: current global scenario and future perspectives – a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*. 2016; 36(3).
6. Dick G, Kitchen S, Haddow A. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1952; 46(5): p. 509-520.
7. Musso D, Cao-Lormaeu V, Gubler D, et al. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya?. *The Lancet*. 2015; 386(9990): p. 243-244.
8. Olson J, Ksiazek T, Suhandiman, et al. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1981; 75(3): p. 389-393.
9. Musso D, Gubler D. Zika Virus. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016; 29: p. 487-524.
10. Darwish M, Hoogstraal H, Roberts T, et al. A sero-epidemiological survey for certain arboviruses (Togaviridae) in Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1983; 77: p. 442-445.
11. Duffy M, Chen T, Hancock W, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med*. 2009; 360: p. 2536-2543.
12. Musso D, Nilles E, Cao-Lormaeu V, et al. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20(10).
13. Haddow A, Schuh A, Yasuda C, et al. Genetic Characterization of Zika Virus Strains: Geographic Expansion of the Asian Lineage. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 Feb; 62(2).
14. World Health Organization. Zika-Epidemiological Report. Epidemiological report. World Health Organization; 2016.
15. Pan American Health Organization. Epidemiological update. Zika virus infection. Epidemiological Update. Washington: Pan American Health Organization; 2015.
16. World Health Organization. WHO statement on the first meeting of the International Health Regulations (2005) (IHR 2005) Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations. Statement. World Health Organization; 2016. Report No: 1.

17. World Health Organization. International Health Regulations (2005). 2nd ed. Organization WH, editor. Ginebra; 2008.
18. World Health Organization. Fifth meeting of the Emergency Committee under the International Health Regulations (2005) regarding microcephaly, other neurological disorders and Zika virus. Statement. ; 2016.
19. World Health Organization. Situation Report Zika Virus Microcephaly Guillain Barre Syndrome. Situation Report. World Health Organization; 2016.
20. Díaz-Quíñonez JA, Escobar-Escamilla N, Wong-Arambula C, et al. Asian Genotype Zika Virus Detected in Traveler Returning to Mexico from Colombia, October 2015. *Emerging Infectious Diseases*. 2016 Mayo; 22(5).
21. Jimenez Corona M, De la Garza Barroso A, Rodriguez Martinez J, et al. Clinical and Epidemiological Characterization of Laboratory-Confirmed Autochthonous Cases of Zika Virus Disease in Mexico. *PLOS Currents Outbreaks*. 2016 Abril; 1.
22. Díaz-Quíñonez JA, Peña-Alonso R, Mendieta-Condado E, et al. Complete Genome Sequence of Zika Virus Isolated in Mexico, 2016. *Genome Announc*. 2016; 4(4).
23. Dirección General de Epidemiología. Casos Confirmados de Enfermedad por virus del Zika SE29 2017. Informe Semanal. Dirección General de Epidemiología; 2016.
24. Faye O, Freire C, De Oliveira J, et al. Molecular Evolution of Zika Virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8(1).
25. Shen S, Shi J, Wang J, et al. Phylogenetic analysis revealed the central roles of two African countries in the evolution and worldwide spread of Zika virus. *Virologica Sinica*. 2016; 31(2): p. 118-130.
26. Sakkas H, Economou V, Papadopoulou C, et al. Zika virus infection: Past and present of another emerging vector-borne disease. *J Vector Borne Dis*. 2016 December; 53(4).
27. World Health Organization. Zika Strategic Plan Response Quarterly Update. Strategic Plan Response. World Health Organization; 2016. Report No. 4.
28. Drummond A, Bouckaert R. Bayesian evolutionary analysis with BEAST 2. 1st ed.: Cambridge University Press; 2015.
29. Hickerson MJ, Carstens BC, Cavender-Bares J, et al. Phylogeography's past, present and future: 10 years after *Aves*, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2010; 54(1).
30. Knowles M, Maddison P. Statistical Phylogeography. *Molecular Ecology*. 2001; 11(12): p. 2323-2635.
31. Bernardi Schneider A, Malone R, Wuo JT, et al. Molecular evolution of Zika virus as it crossed the Pacific to the Americas. *Cladistics*. 2016; 1(20).
32. Faria N, Quick J, Claro I, et al. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. *Nature*. 2017 Jun; 546.

33. Kwong J, Druce J, Leder K, et al. Zika Virus Infection Acquired During Brief Travel to Indonesia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2013; 89(3).
34. Fonseca K, Meatherall B, Zarra D, et al. First Case of Zika Virus Infection in a Returning Canadian Traveler. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2014; 91(5).
35. Fajardo A, Soñora M, Moreno P, et al. Bayesian Coalescent Inference Reveals High Evolutionary Rates and Diversification of Zika Virus Populations. *Journal of Medical Virology*. 2016; 88(3).
36. Holmes E, Rambaut A. Viral evolution and the emergence of SARS. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 2004; 359(2).
37. Longdon B, Hadfield J, Webster, et al. Host Phylogeny Determines Viral Persistence and Replication in Novel Hosts. *PLoS Pathogens*. 2011; 7(9).
38. Vieira M, Xavier de Oliveira M, Vilela C, et al. Virulence Profiles, Phylogenetic Background, and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Turkeys with *Airsacculitis*. *• e Scientific World Journal*. 2014; 2014.
39. Feuerriegel S, Koser C, Niemann S, et al. Phylogenetic polymorphisms in antibiotic resistance genes of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69.
40. Hadj Fredj M, Benhamida-Rebaj M, Heylen E, et al. Sequence and phylogenetic analyses of human rotavirus strains: Comparison of VP7 and VP8/ antigenic epitopes between Tunisian and vaccine strains before national rotavirus vaccine introduction. *Infection, Genetics and Evolution*. 2013; 18(2).
41. Avazoba D, Kurbanov F, Tanaka Y, et al. Hepatitis B Virus Transmission Pattern and Vaccination Efficiency in Uzbekistan. *Journal of Medical Virology*. 2008; 80(4).
42. Moreno-Altamirano A, Lopez_Moreno S, Corcho-Berdugo A, et al. Principales medidas en epidemiología. *Salud Pública de México*. 2000; 42(4).
43. Secretaría de Salud. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Vectores. Lineamientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica. Dirección General de Epidemiología; 2016.
44. Pan American Health Organization. Pan American Health Organization Zika Virus Infection. [Online]; 2016 [cited 2016 feb 22. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12390&Itemid=42090&lang=es.
45. Torok M, Nelsoln A. Epidemic Curves Ahead. *Focus on Field Epidemiology*. 2012; 1(5).
46. Garay C, Román-Pedroza J, Díaz-Quiñonez JA. Caracterización Clínico Epidemiológica de la Fiebre Chikungunya a partir de su introducción en México. Tesis para obtener el grado como Médico Especialista en Epidemiología. Dirección General de Epidemiología; 2016.
47. Ministerio de Salud y Protección Social. Plan Nacional de Respuesta Frente a la Introducción del Virus Chikungunya en Colombia. Plan Nacional de Respuesta. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2014.

48. Foxman B. Molecular Tools and infections Diseases Epidemiology. 2nd ed.: Academic Press; 2011.
49. Struelens M, Brisse S. From molecular to genomic epidemiology: transforming surveillance and control of infectious diseases. *Eurosurveillance*. 2013; 18(4).
50. Mayindou C, Ngokana B, Sidibe A, et al. Molecular Epidemiology and Surveillance of circulating Rotavirus and adenovirus in Congolese children with gastroenteritis. *Journal of Medical Virology*. 2016; 88: p. 596-605.
51. Liu W, Tang F, Fontanet A, et al. Molecular Epidemiology of SARS-associated Coronavirus, Beijing. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11(9).
52. Vasylyeva T, Friedman S, Paraskevis D, et al. Integrating molecular epidemiology and social network analysis to study infections: Towards a socio-molecular era for public health. *Infection, Genetics and Evolution*. 2016; 46: p. 248-255.
53. Scarpino S, Iamarino A, Wells C, et al. Epidemiological and Viral Genomic Sequence Analysis of the 2014 Ebola Outbreak Reveals Clustered Transmission. *Clinical Infectious Diseases*. 2014 Diciembre; 60(7).
54. Beloukas A, Psarris A, Giannelou P, et al. Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Europe: An overview. *Infection, Genetics and Evolution*. 2016.
55. Garg P, Aydanian A, Smith D, et al. Molecular Epidemiology of O139 *Vibrio cholerae*: Mutation, Lateral Gene Transfer, and Founder Flush. *Emerging Infectious Diseases*. 2003 Julio; 9(7).
56. Hartman M, Loy EY, Seng Ku C, et al. Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. *The Lancet Oncology*. 2010 Abril; 11(4).
57. Bucardo F, Nordgren J. Impact of vaccination on the molecular epidemiology and evolution of group A rotaviruses in Latin America and factors affecting vaccine efficacy. *Infection, Genetics and Evolution*. 2015 Agosto; 34.
58. Zhong D, Afrane Y, Githeko A, et al. Molecular epidemiology of drug-resistant malaria in western Kenya highlands. *BMC Infectious Diseases*. 2008; 8(105).
59. Tsan-Yuk L T, Chau H C, Tang J, et al. Use of phylogenetics in the molecular epidemiology. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Science*. 2010; 47(1).
60. Chen M, Kup L, Lewis P. *Bayesian Phylogenetics Methods, Algorithms, and Applications*. 1st ed.: Taylor & Francis Group; 2014.
61. Lemey P, Salemi M, Vandamme A. *The Phylogenetic Handbook*. 2nd ed.: Cambridge University Press; 2009.
62. Lam T, Hon C, Tang J, et al. Use of phylogenetics in the molecular epidemiology and evolutionary studies of viral infections. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2010; 47(1).
63. Mitrophanov A, Borodovsky M. Statistical significance in biological sequence analysis. *Briefings in Bioinformatics*. 2005; 7(1).

64. [Molcularevolution.org](http://www.molrev.org). [molcularevolution.org](http://www.molcularevolution.org). [Online].; 2016 [cited 2016 Nov. Available from: <http://www.molcularevolution.org/resources/models/nucleotide>].
65. Baum D, Smith S. *Tree Thinking: An Introduction to Phylogenetic Biology*. 1st ed.: W. H. Freeman; 2012.
66. Yang Z, Ranala B. Molecular phylogenetics. *Nature Review Genetics*. 2012; 13(1).
67. Lemey P. *The Phylogenetic Handbook*. 2nd ed.: Cambridge University Press; 2009.
68. Breban R, Vardavas R, Blower S, et al. Theory Versus Data: How to Calculate R0. *PLoS ONE*. 2007; 2(3).
69. Holland J. Notes On R0. <https://web.stanford.edu/~jhj1/teachingdocs/Jones-on-R0.pdf>. Stanford University, Department of Anthropological Sciences; 2007.
70. Kucharski A, Funk S, Eggo M, et al. Transmission dynamics of Zika virus in island populations: a modelling analysis of the 2013–14 French Polynesia outbreak. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2016; 10(5).
71. Champagne C, Salthouse D, Paul R, et al. Structure in the variability of the basic reproductive number (R0) for Zika epidemics in the Pacific islands. *eLife*. 2016; 5(3).
72. Towers S, Brauer F, Castillo-Chavez C, et al. Estimate of the reproduction number of the 2015 Zika virus outbreak in Barranquilla, Colombia, and estimation of the relative role of sexual transmission. *Epidemics*. 2016; 17(17).
73. Stadler T, Kuoyos R, Wyl V. Estimating the Basic Reproductive Number from Viral sequence data. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 29(1).
74. Frost S, Volz E. Viral phylodynamics and the search for an ‘effective number of infections’. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2010; 365.
75. World Health Organization. Zika Strategic Response Plan Quarterly Update Revised for July 2016 – December 2017. Strategic Response Plan. World Health Organization; 2016. Report No.: WHO/ZIKV/SRF/16.4.
76. Pan American Health Organization. Pan American Health Organization Zika-Epidemiological Report. [Online]; 2016 [cited 2017 feb 22. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=35106&Itemid=270].
77. Secretaría de Salud. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. [Online]; 1986 [cited 2017 jul 22. Available from: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>].
78. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014, Para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención. [Online].; 2016 [cited 2017 Jul 20. Available from: http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/NOM_032_SSA2_2014.pdf].

79. INEGI. Regiones socioeconómicas de México. [Online].; 2017 [cited 2017 Jul. Available from: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/regsoc/default.asp?c=11723>.

80. Kindhauser M, Allen T, Frank V, et al. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. *Bull World Health Organ*. 2016 Feb; 94.

81. Worobay M. Molecular mapping of Zika spread. *Nature*. 2017 Jun; 546.

82. Díaz-Quiñonez JA, López-Martínez I, Torres-Longoria B, et al. Evidence of the presence of the Zika Virus in Mexico since early 2015. *Virus Genes*. 2016; 52.

83. Lucey D, Cummins H, Sholts S, et al. Congenital Zika Syndrome in 2017. *JAMA*. 2017 APR; 317(13).

84. Zin A, Tsui I, Rossetto J, et al. Screening Criteria for Ophthalmic Manifestations of Congenital Zika Virus Infection. *JAMA Pediatrics*. 2017 Jul; Online.

Anexos

Operacionalización de variables.

Variable	Descripción	Categorías	Definición	Tipo de Variable
Sexo	El caso es del sexo: Femenino o masculino.	0= Masculino 1= Femenino	Es la característica biológica que permite clasificar a los seres humanos en hombres y mujeres.	Cualitativa nominal dicotómica.
Edad	Indica la edad del caso. Está expresada en años.	De 1 año, 2,3,4,5,6,	Tiempo que ha vivido una persona.	Cuantitativa discreta.
Lugar de residencia	Es la entidad federativa de residencia del caso, donde adquirió ZIKV. (se toman en cuenta solo los estados donde existe el vector)	Entidades Federativas: 1. Aguascalientes 2. Baja California 3. Baja California Sur 4. Campeche 5. Coahuila 6. Colima 7. Chiapas 8. Chihuahua 9. Distrito Federal 10. Durango 11. Guanajuato 12. Guerrero 13. Hidalgo 14. Jalisco 15. Edo. de México 16. Michoacán 17. Morelia 18. Nayarit 19. Nuevo León 20. Oaxaca 21. Puebla 22. Querétaro 23. Quintana Roo 24. San Luís Potosí 25. Sinaloa 26. Sonora 27. Tabasco 29. Tlaxcala 30. Veracruz 31. Yucatán 32. Zacatecas	Lugar en que se reside o se vive.	Cualitativa nominal politómica.
Semana epidemiológica	Indica la semana epidemiológica en el que fue notificado el caso de ZIKV.	Semana epidemiológica de la 1 a la 52.	Este período es generalmente de una semana y se le conoce como semana epidemiológica; el cual es un instrumento de estandarización de variable tiempo para los fines de la vigilancia epidemiológica.	Cualitativa nominal politómica.
LESP o LAVE que procesó muestra.	Laboratorio Estatal de Salud Pública o Laboratorio de Apoyo a la Vigilancia Epidemiológica donde se procesó la muestra para detección de ZIKV	1. Aguascalientes 2. Baja California 3. Baja California Sur 4. Campeche 5. Coahuila 6. Colima 7. Chiapas		Cualitativa nominal politómica.

		8. Chihuahua 9. Distrito Federal 10. Durango 11. Guanajuato 12. Guerrero 13. Hidalgo 14. Jalisco 15. Edo. de México 16. Michoacán 17. Morelia 18. Nayarit 19. Nuevo León 20. Oaxaca 21. Puebla 22. Querétaro 23. Quintana Roo 24. San Luís Potosí 25. Sinaloa 26. Sonora 27. Tabasco 29. Tlaxcala 30. Veracruz 31. Yucatán 32. Zacatecas		
Sintomatología predominante	Principales síntomas que presentó el caso de ZIKV (Sintomatología extraída del estudio de caso).	1.Fiebre 2.Cefalea 3.Mialgias 4.Artralgias leves o moderadas 5.Poliartralgias severas (incapacitantes) 6.Dolor retroocular 7.Exantema 8.Prurito 9.Conjuntivitis	Es la referencia subjetiva que da un enfermo de la percepción que reconoce como anómala o causada por un estado patológico o una enfermedad.	Cualitativa nominal politómica.
Comorbilidades	Comorbilidades extraídas del estudio de caso.	1.Trastornos hemorrágicos 2.Diabetes 3.Hipertensión 4. Enfermedad Úlcera Péptica 5. Enfermedad Renal 6. Inmunosupresión 7. Cirrosis Hepática 8. Otros (especificado)	Coexistencia de dos o más enfermedades en un mismo individuo, generalmente relacionadas.	Cualitativa nominal dicotómica.
Embarazo	La mujer se encontraba embarazada durante el periodo que cursa con ZIKV	0=No 1=Si	Es el período que transcurre entre la implantación del cigoto en el útero, hasta el momento del parto	Cualitativa nominal dicotómica.
Técnicas diagnósticas por laboratorio	Método de estudio realizado por laboratorio para confirmar diagnóstico por el InDRE	1=RT-PCR	Prueba de laboratorio complementaria para confirmar o descartar una enfermedad	Cualitativa nominal dicotómica.

Dictamen de comité

"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

Memorandum

DGE-DGAE-DIOE-MEMB-01181-2017

Para: Dr. Eduardo López Ortiz
Médico Residente de 3er. año

Fecha: 04 JUL 2017

Asunto: Comentarios y dictamen a protocolo

De acuerdo a su solicitud para la revisión y autorización de su protocolo CEI-003/17 titulado "*Epidemiología Molecular del Virus Zika en México 2015-2016*".

Anexo envío a usted copia del oficio número CI-017-2017 de fecha 30 de junio de 2017, con las observaciones, recomendaciones y dictamen de **APROBADO**, entregado por la Dra. Guadalupe Silvia García de la Torre, Presidenta del Comité de Investigación de la Dirección General de Epidemiología.

Sin más por el momento, quedo a sus órdenes y reciba un cordial saludo.

Atentamente



Dr. Javier Montiel Perdomo
Director de Investigación Operativa Epidemiológica



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

Memorandum

DGE-DGAE-DIOE-MEMO- 1217 -2017

Para: Dr. Eduardo López Ortiz
Médico Residente de 3er. año

Fecha: 07 JUL 2017

Asunto: Comentarios y dictamen a protocolo

De acuerdo a su solicitud para la revisión y autorización de su protocolo CEI-003/17 titulado "*Epidemiología molecular del Virus Zika en México 2015-2016*".

Anexo envío a usted copia del oficio número CEI-008-2017 de fecha julio 4 del presente año, con las observaciones, recomendaciones y dictamen de **APROBADO**, entregado por el Dr. Octaviano Humberto Domínguez Márquez, Presidente del Comité de Ética en Investigación de la Dirección General de Epidemiología.

Sin más por el momento, quedo a sus órdenes y reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Javier Montiel Perdomo
Director de Investigación Operativa Epidemiológica