

# Arbovirosis emergentes y reemergentes: dengue, chikungunya, Zika y fiebre del Nilo Occidental. Revisión de su distribución geográfica, mecanismos de transmisión y diagnóstico

Izaskun Alejo-Cancho<sup>1</sup>, Miguel J. Martínez Yoldi<sup>1</sup>, María Velasco Arribas<sup>2</sup> y Grupo de Trabajo de Enfermedades Emergentes de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Instituto de Salud Global de Barcelona. Universidad de Barcelona. <sup>2</sup>Sección de Infecciosas y Medicina Tropical. M.Interna. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Universidad Rey Juan Carlos. <sup>3</sup>Miembros del Grupo de Trabajo de Enfermedades Emergentes de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI).

## **Miembros del Grupo de Trabajo de Enfermedades Emergentes de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI):**

**Jesús Roche.** Escuela Nacional de Sanidad, Madrid.

**Basilio Valladares.** Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias (Universidad de La Laguna).

**Cesar Velasco.** ISGlobal, Barcelona Ctr. Int. Health Res. (CRESIB). Hospital Clínic - Universitat de Barcelona. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

**Diana Pou.** Unidad de Medicina Tropical Drassanes/Vall d'Hebron. Programa de Salud Internacional del ICS (Prosics). Barcelona.

**Jesús García Calleja.** WHO.

**Milagros García Hortelano.** Unidad de Adopción Internacional y Consulta del Niño Viajero. Servicio de Pediatría hospitalaria, Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Hospital Universitario Infantil La Paz-Carlos III. Madrid.

**María Paz Sánchez-Seco y Anabel Negrodo Antón.** Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

**Miguel Mínguez.** Asesor AMSE (Asociación de Médicos de Sanidad Exterior).

**José Muñoz.** Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Instituto de Salud Global de Barcelona.

**Francisco Giménez.** Instituto Balmis de Vacunas. Instituto Hispalense de Pediatría.

**Marta Arsuaga.** Unidad de Medicina Tropical y del Viajero del Hospital La Paz-Carlos III.

**Fernando de la Calle-Prieto.** Unidad de Medicina Tropical y del Viajero del Hospital La Paz-Carlos III.

## Resumen

Los arbovirus no son un grupo filogenético, sino un conjunto de virus pertenecientes a distintas familias que comparten la vía de transmisión a través de artrópodos. Hoy día suponen una amenaza para la salud global. Suelen ser virus ARN lo que les permite una mayor adaptación a los huéspedes susceptibles y a cambios en el ambiente. Muchos arbovirus causan zoonosis con complejos ciclos de transmisión en los que participan huéspedes vertebrados y artrópodos vectores. Los ciclos pueden ser enzoótico o selvático, doméstico y urbano. Los principales vectores de estos arbovirus son mosquitos de los géneros *Aedes* (virus dengue, chikungunya y Zika) y *Culex* (virus del Nilo Occidental), aunque para los diferentes virus también se han descrito otros medios de transmisión como trasplantes, transfusiones y accidentes de laboratorio. En el caso del virus Zika también existe la transmisión sexual y vertical. Los virus analizados en esta revisión comparten en gran medida distribución geográfica (América Latina, África subsahariana, subcontinente indio y sudeste asiático) con excepción del virus del Nilo Occidental, que presenta mayor diseminación en el planeta. Este último virus es el único arbovirus de los 4 que es autóctono en España. En los últimos 20 años se han producido grandes epidemias de estos arbovirus debido a la expansión de vectores competentes y a la introducción de virus en regiones donde no se habían descrito (virus Zika). El diagnóstico de estos virus puede realizarse por técnicas directas como reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en distintas muestras clínicas (sangre, orina, saliva, líquido cefalorraquídeo, etc.), con ventanas de detección diferentes en cada caso o mediante serología. El inconveniente del diagnóstico serológico es la tasa de reacciones cruzadas que requieren la realización de pruebas de neutralización, mucho más complejas, para conseguir un diagnóstico más específico. Es necesario conocer la clínica, distribución y métodos diagnósticos de estas arbovirosis para poder realizar un correcto diagnóstico y tratamiento de las mismas en zonas no endémicas.

### Palabras clave:

Arbovirus.  
Distribución geográfica.  
Mecanismos de transmisión.  
Prevención.

## Emergent and re-emergent arbovirois: dengue, chikungunya, Zika and West Nile fever. Review of geographical distribution, transmission and diagnosis

### Summary

Arboviruses are not a phylogenetic group, but a group of viruses belonging to different families that share the route of transmission through arthropods. Today they pose a threat to global health. They are usually RNA viruses, which allows them greater adaptation to susceptible hosts and environmental change. Many arboviruses are zoonoses with complex transmission cycles involving vertebrate hosts and arthropod vectors. The cycles can be enzootic or wild, domestic and urban. The main vectors are mosquitoes of the genera *Aedes* (dengue, chikungunya and Zika virus) and *Culex* (West Nile virus). However, alternative transmissions mechanism have been described, such as transplantation, blood transfusion and laboratory exposure. Zika virus can also be transmitted sexually. The viruses analyzed in this review largely share geographical distribution (Latin America, sub-Saharan Africa, Indian subcontinent and Southeast Asia) with the exception of West Nile virus, which is the most widespread on the planet and is the only autochthonous arbovirus in Spain among the virus reviewed in this paper. Large epidemics of these arboviruses have occurred in the last 20 years due to the expansion of competent vectors and the introduction of viruses in regions where they had not been described (Zika virus). The diagnosis of these viruses can be made by direct techniques such as polymerase chain reaction with RT-PCR reverse transcriptase in different clinical samples (blood, urine, saliva, cerebrospinal fluid, etc.), with different detection windows in each case or by serology. The drawback of the serological diagnosis is the rate of cross reactions that require neutralization tests, much more complex, to achieve a more specific diagnosis. It is necessary to know the clinical, distribution and diagnostic methods of these arbovirois to be able to make a correct diagnosis and treatment of them in non-endemic areas.

### Key words:

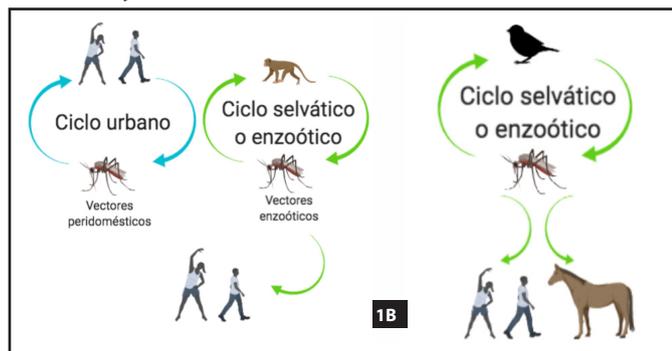
Arbovirus.  
Geographical distribution.  
Transmission. Diagnosis.  
Prevention.

## Introducción

El término arbovirus (*arthropod-borne virus*) hace referencia a un grupo heterogéneo de virus que se caracteriza por ser transmitidos por vectores artrópodos (fundamentalmente mosquitos, garrapatas y moscas de la arena). Los arbovirus no son un grupo filogenético, sino un grupo de virus pertenecientes a distintas familias que comparten la vía de transmisión<sup>1</sup>. La mayoría de ellos son virus ARN (con la única excepción del género *Asfavirus*), lo que les permite adaptarse fácilmente a nuevos huéspedes y a cambios en el ambiente.

Muchos de los arbovirus causan zoonosis que se mantienen mediante unos complejos ciclos de transmisión en los que participan huéspedes vertebrados y artrópodos vectores (Figura 1). A grandes rasgos, los arbovirus presentan un ciclo enzoótico o selvático en el cuál la transmisión se da entre los vectores artrópodos y el principal huésped vertebrado. En este ciclo el animal salvaje no suele presentar clínica debida a la infección, o si la presenta es muy leve. El ciclo epizootico o rural es aquel que tiene lugar entre el vector principal u otros vectores y animales domésticos o peridomésticos. Esto puede dar lugar a epidemias en animales que habitualmente no están expuestos al patógeno, causando una gran morbimortalidad. Finalmente, en el ciclo urbano, la transmisión ocurre principalmente entre humanos y vectores. Este ciclo se desarrolla tras la entrada en contacto del ser humano con alguno de los ciclos previos (el selvático o el rural). En algunos casos (virus dengue, virus chikungunya) el ciclo urbano es suficiente para mantener la transmisión entre humanos, sin requerir los otros ciclos para la persistencia de la enfermedad

**Figura 1. 1A. Ciclo de transmisión de los virus dengue, Zika y chikungunya. Los principales hospedadores vertebrados son representados arriba del ciclo y los vectores artrópodos abajo: *Aedes aegypti*/*Ae. albopictus* para el ciclo urbano y otras especies de *Aedes* para el ciclo selvático. 1B. Ciclo de transmisión del virus del Nilo Occidental. El ser humano y caballos son huéspedes terminales y los vectores artrópodos son *Culex* y *Aedes*.**

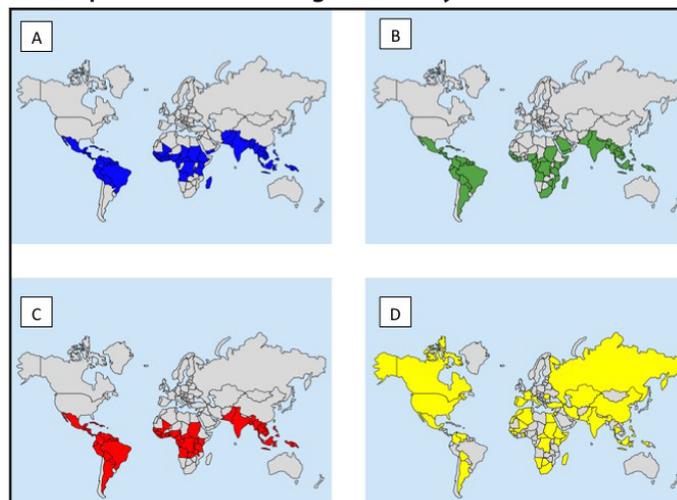


en una región. Sin embargo, en otros casos como el del virus del Nilo Occidental, los humanos no son buenos amplificadores del virus, por lo que se convierten en huéspedes terminales que no pueden volver a infectar al vector y por lo tanto no permiten que se complete el ciclo. En estos casos los ciclos selvático y rural son los que tienen un papel importante en el mantenimiento de la enfermedad, mediante la presencia de huéspedes vertebrados que son buenos amplificadores del virus<sup>2</sup>.

Los arbovirus son una importante causa de enfermedad a nivel mundial<sup>3</sup>. Un gran número de los arbovirus conocidos circulan en regiones tropicales y subtropicales, donde hay gran abundancia de vectores competentes. El virus dengue (DENV) y el virus del Nilo Occidental (VNO) son dos ejemplos de arbovirus con una amplia distribución mundial (Figura 2)<sup>4,5</sup>. Otros arbovirus tienen una distribución geográfica más limitada, siendo endémicos de regiones donde se encuentran los vectores y las condiciones óptimas para su transmisión. No obstante, la expansión de vectores competentes y la introducción de virus en regiones donde previamente no se habían descrito ha dado lugar en los últimos años a grandes epidemias de diferentes arbovirus, como la de VNO en Nueva York en 1999<sup>6</sup>, las de chikungunya en la isla La Reunión en 2005 y en las Américas en 2013<sup>7</sup> y la más reciente epidemia de Zika que comenzó en Brasil en 2015<sup>8</sup>.

La emergencia de los arbovirus no puede explicarse por un único factor<sup>9-11</sup>. La globalización, con viajes internacionales cada vez más frecuentes y rápidos; la expansión de vectores competentes; el establecimiento del ser humano en regiones previamente no urbanizadas, la posibilidad de mutaciones virales o el comportamiento humano son algunos de los factores que

**Figura 2. Mapas de áreas con transmisión autóctona sostenida de dengue (A), chikungunya (B), Zika (C) y virus del Nilo Occidental (D). La falta de datos en algunas regiones puede hacer que las áreas de riesgo sean mayores.**



juegan un papel importante en la emergencia y re-emergencia de estos patógenos.

Debido a su amplia distribución y a las recientes epidemias, es de vital importancia la sospecha clínica ante los casos sugestivos de arbovirosis. Se requieren también herramientas adecuadas para realizar un diagnóstico etiológico rápido y certero de estos cuadros, que permita implementar las medidas de control y terapéuticas adecuadas frente a cada patógeno. El diagnóstico de laboratorio de las arbovirosis se basa en técnicas de detección directa y en técnicas serológicas o indirectas<sup>12,13</sup>. Las técnicas directas incluyen el aislamiento del virus, la detección del genoma viral mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, del inglés *reverse transcription polymerase chain reaction*), y la detección de antígenos virales. Estas técnicas pueden llevarse a cabo durante la fase aguda, cuando el virus o sus compuestos se encuentran en el organismo. Aportan un diagnóstico de confirmación, pero la ventana de tiempo en la que pueden realizarse es por lo general limitada (según el periodo de viremia o de excreción de cada patógeno).

Las técnicas indirectas o serológicas se basan en la detección de anticuerpos producidos frente al patógeno. Estas permiten ampliar la ventana diagnóstica, pero requieren muestras pareadas para confirmar el diagnóstico mediante seroconversión o aumento de título. Además hoy en día, con múltiples arbovirus de la misma familia circulando en las mismas regiones, las pruebas serológicas muestran graves problemas de reacciones cruzadas que limitan su utilidad diagnóstica<sup>14</sup>. En la medida de lo posible, se debe combinar el uso de técnicas directas e indirectas a fin de incrementar las posibilidades de un diagnóstico de confirmación.

Los arbovirus representan hoy en día una importante amenaza para la salud global<sup>9,15</sup>. La sospecha clínica y unas herramientas diagnósticas adecuadas son indispensables para hacer frente a este problema y tratar de evitar la expansión de estas enfermedades. El objetivo de este trabajo es revisar la distribución geográfica, transmisión y diagnóstico de cuatro de los arbovirus con mayor importancia actual: DENV, CHIKV, ZIKV y VNO.

## Dengue

Aunque no se sabe con seguridad, se cree que el término dengue deriva de la frase en swahili "*ki-dinga pepo*", que quiere decir calambre causado por un mal espíritu. El DENV es un arbovirus del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*, del que se han descrito cuatro serotipos diferentes (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4). Se considera la enfermedad viral transmitida por mosquitos más prevalente a nivel mundial, con una estimación de 390 millones de infecciones por DENV al año, 96 millones de las

cuales producen enfermedad clínica<sup>4</sup>. En 2013 se sugirió la existencia de un quinto serotipo (DENV-5) en muestras de suero de una epidemia de malaria ocurrida en 2007<sup>16</sup>, si bien este hallazgo no ha sido suficientemente confirmado.

## Distribución geográfica

Se cree que DENV se originó en el continente africano y durante los siglos XVIII y XIX se expandió por todas las regiones tropicales, acompañando la expansión de su principal vector *Aedes aegypti*<sup>17</sup>. En siglos posteriores la introducción de diferentes serotipos y nuevas cepas en dichas regiones derivó en la situación actual, en la que la mayoría de regiones tropicales son hiperendémicas, es decir, múltiples serotipos circulan en ellas de forma simultánea.

En la actualidad, el DENV se encuentra en regiones tropicales y subtropicales, afectando aproximadamente a 125 países y poniendo en riesgo a 2.500 millones de personas, casi la mitad de la población mundial<sup>4</sup>. Su distribución abarca países del Sudeste Asiático, Centro y Sudamérica, Pacífico occidental y África, afectando así a 5 de las 6 regiones definidas por la OMS (todas excepto la europea; <https://www.who.int/about/regions/es/>).

Algunos factores como la expansión de los vectores y la rapidez de los viajes internacionales hacen que el riesgo de introducir DENV en nuevas zonas sea alto, dando lugar a epidemias por nuevos serotipos en zonas endémicas o brotes en lugares previamente no endémicos<sup>15</sup>. Así, se han descrito casos autóctonos aislados o pequeños brotes en algunos países europeos, como Francia y Croacia<sup>18-20</sup> e incluso grandes epidemias, como la descrita en la isla portuguesa de Madeira en 2012<sup>21</sup>. Recientemente se han descrito también 6 casos autóctonos de dengue en España<sup>22</sup>.

## Transmisión

La principal vía de transmisión del DENV es la picadura de mosquitos hembra del género *Aedes*. En el caso del DENV el ciclo urbano es el que mantiene la presencia de la enfermedad en zonas endémicas, teniendo el ciclo selvático en el que toman parte primates no-humanos un papel de dudosa importancia desde el punto de vista de salud pública.

*Aedes aegypti* es el vector principal y el que se encuentra más ampliamente distribuido en las zonas endémicas. El mosquito *Aedes albopictus*, también conocido como mosquito tigre, es igualmente capaz de transmitir la enfermedad, aunque su capacidad como vector es inferior a la de *Aedes aegypti*. No obstante, el mosquito tigre es de gran importancia por su capacidad para expandirse y colonizar nuevas áreas, como ha ocurrido en la región Europea<sup>23</sup>.

Tanto *Ae. aegypti* como *Ae. albopictus* son mosquitos de actividad diurna, por lo que las mosquiteras impregnadas con insecticida que se emplean para controlar otras enfermedades transmitidas por mosquitos nocturnos son menos eficientes en este caso. *Aedes aegypti* habita principalmente en ambientes peridomésticos de regiones tropicales y subtropicales y es principalmente antropófilo, alimentándose tanto en ambientes exteriores como interiores<sup>24</sup>. Es frecuente su patrón de alimentaciones parciales, picando varios individuos durante la ingesta. Esta especie de mosquito cría en pequeños reservorios de agua como floreros o pequeños recipientes de agua y existe transmisión vertical del virus desde la hembra del mosquito a los huevos que deposita. Los hábitats de ambas especies son similares, necesitando únicamente pequeños depósitos de agua para criar<sup>23</sup>. En general, *Ae. albopictus* es abundante en zonas rurales y periurbanas, puede sobrevivir en zonas más templadas (al contrario que *Ae. aegypti*) y se alimenta de diferentes especies de animales, aunque en ambientes urbanos tiene un comportamiento principalmente antropofílico<sup>25</sup>. El rango medio de temperatura en el que ocurre la transmisión oscila entre 18-34 °C, siendo máxima entre 26 y 29 °C<sup>26</sup>.

Los mosquitos se infectan al alimentarse de la sangre de una persona en fase virémica (fase aguda de la enfermedad en la que el virus circula en la sangre del paciente). En ese momento comienza el periodo de incubación extrínseco, que es el que transcurre entre la ingesta de la sangre hasta que el virus alcanza las glándulas salivares del mosquito, momento en el cual se vuelve infeccioso. El periodo de incubación extrínseco puede durar unos 8-12 días, pero se ve afectado por factores como la temperatura, siendo más breve en ambientes más cálidos. El periodo de incubación intrínseco es el que va desde la infección (tras la picadura del mosquito) hasta la aparición de los síntomas en el ser humano (3-14 días)<sup>27</sup>.

Además de la transmisión vectorial se han descrito otras vías de transmisión menos frecuentes, como la transmisión a partir de transfusiones sanguíneas o trasplantes de órganos, accidentes de laboratorio o transmisión vertical durante el embarazo<sup>28,29</sup>.

## Diagnóstico

La infección por DENV puede ser asintomática o provocar desde un cuadro leve hasta un cuadro grave con síntomas hemorrágicos<sup>30</sup>. Entre los síntomas más frecuentes se encuentran cefalea, fiebre, rash, malestar general, mialgias, etc. Los síntomas son muy inespecíficos, por lo que se requieren pruebas específicas para realizar un diagnóstico etiológico que permita diferenciarlo de otras enfermedades tropicales.

La detección del genoma viral mediante RT-PCR puede llevarse a cabo durante el periodo virémico, desde 24-48 horas

antes del inicio de los síntomas hasta 5-6 días después del inicio, detectándose en casos aislados hasta 8 días después del inicio de los síntomas. Otro método de diagnóstico directo de gran utilidad en el caso de la infección por DENV es la detección de antígeno NS1 circulante. Esta también se detecta durante el periodo virémico y puede prolongar un poco más la ventana de diagnóstico. La detección de antígeno puede llevarse a cabo mediante técnicas rápidas como las basadas en inmunocromatografía, que permiten la obtención de resultados en escasos minutos, pero presentan una sensibilidad limitada. Otro método para la detección de antígeno NS1 es el ELISA, el cual tiene un mayor rendimiento diagnóstico pero es una técnica más lenta y laboriosa<sup>27</sup>.

La RT-PCR puede emplearse también en muestras de orina y saliva. La orina puede dar resultados positivos entre los días 6 y 16 tras el inicio de los síntomas, lo que permitiría ampliar la ventana diagnóstica<sup>31</sup>.

Los anticuerpos IgM, una de las pruebas más empleadas a nivel global para el diagnóstico, pueden detectarse a partir de 3-5 días tras el inicio de los síntomas y pueden persistir positivos unos meses<sup>32</sup>. Los anticuerpos IgG positivizan unos 7-10 días tras el inicio del cuadro y se mantienen positivos durante toda la vida<sup>31</sup>.

El DENV presenta una peculiaridad que no se da en otros *arbovirus*, y es que una persona a lo largo de la vida puede padecer la infección hasta 4 veces, una por cada uno de los serotipos. La primera infección por dengue, sea cual sea el serotipo, se conoce como dengue primario. A partir de esta infección, todas las posteriores se conocen como dengue secundario. La infección por un segundo serotipo de dengue puede dar un cuadro clínico más grave que el del dengue primario. Uno de los mecanismos más aceptados que explican este fenómeno es la potenciación inmunitaria o ADE (*Antibody Dependent Enhancement*). Brevemente, los anticuerpos presentes frente al serotipo previo se unen al virus pero no son capaces de neutralizarlo y acaban favoreciendo su multiplicación en células como los macrófagos causando una infección más grave<sup>33</sup>. Sin embargo, también son posibles casos de dengue severo e incluso hemorrágico en infecciones primarias y otros mecanismos fisiopatogénicos además del ADE pueden jugar un papel en el desarrollo de cuadros severos por dengue.

El diagnóstico del dengue secundario tiene unas características que difieren del diagnóstico del dengue primario. En el dengue secundario al inicio de la infección pueden detectarse anticuerpos IgG frente al dengue previo, y la respuesta IgM frente al episodio actual puede ser baja o nula. Estos anticuerpos circulantes pueden ligarse al antígeno NS1 formando inmunocomplejos que dificultan su detección, por lo que la sensibilidad de la detección de antígenos disminuye en las infecciones secundarias. Por todo ello, el diagnóstico de dengue secundario puede alcanzarse mediante detección del genoma por RT-PCR en presencia de una IgG positiva<sup>31</sup>.

**Tabla 1. Criterios de laboratorio para el diagnóstico de virus dengue.**

Dengue probable	Dengue confirmado
Una de las siguientes: - IgM positiva aislada	Una de las siguientes: - RT-PCR positiva - Cultivo viral positivo - Detección de antígeno NS1 - Detección de IgM específica y confirmación con neutralización - Seroconversión o aumento de cuatro veces el título en muestras pareadas

Se obtiene el diagnóstico de confirmación para DENV (Tabla 1) mediante las técnicas directas o con la observación de seroconversión o de un aumento de cuatro veces del título de anticuerpos en dos muestras pareadas. Una IgM aislada sólo permitirá etiquetar el caso como probable<sup>34</sup>.

El diagnóstico de DENV se ha visto dificultado por la circulación de diferentes *flavivirus* en la misma región. Los resultados obtenidos por serología han de ser tomados con cautela, ya que se ha observado un alto grado de reactividad cruzada entre DENV y ZIKV. Las técnicas de neutralización son las más específicas, pero su realización es costosa, compleja y laboriosa, y para ser correctamente interpretadas deben realizarse frente a todos los *flavivirus* circulantes en la región y en muestras pareadas, por lo que no se emplean para el diagnóstico de rutina. Actualmente, se recomienda realizar algoritmos diagnósticos que permitan un diagnóstico simultáneo de DENV, CHIKV y ZIKV<sup>35</sup>.

## Chikungunya

El virus chikungunya es un virus del género *Alphavirus*, familia *Togaviridae*. Se han descrito tres genotipos principales (Asiático, ECSA (Este/Centro/Sur Africano) y genotipo del África del oeste)<sup>36</sup>; el linaje del océano Índico (IOL) deriva del ECSA. El chikungunya está relacionado con otros *alphavirus* que también causan cuadros clínicos de fiebre y artralgias (O'nyong-nyong, Barmah, Ross River, Semliki, Mayaro y Sindbis). El nombre chikungunya en el dialecto Makonde de Tanzania quiere decir "enfermedad que dobla las articulaciones", nombre que hace referencia a las incapacitantes artralgias e incluso artritis que provoca la infección<sup>37</sup>.

## Distribución geográfica

El CHIKV se describió por primera vez durante un brote en Tanzania en 1952<sup>37</sup>, pero se cree que probablemente llevaba siglos circulando en África y que ya se importó a Asia y América durante los siglos XVIII y XIX mediante el comercio de esclavos,

en barcos gracias a los cuales también se expandió el vector *Aedes aegypti*<sup>24</sup>. De hecho, se cree que algunos de los brotes de dichas épocas clasificados como dengue, pudieron deberse en realidad al virus chikungunya según las descripciones clínicas de los mismos<sup>38</sup>.

No obstante, no fue hasta 1952 cuando se describió formalmente su presencia en Tanzania, y posteriormente en Uganda y en otros países sub-saharianos. La primera descripción del virus fuera de África se hizo en 1958, en un brote en Tailandia<sup>36</sup>.

En 2004 se describió la aparición de una nueva cepa derivada del genotipo ECSA originada en Kenia, la cepa del África del oeste, que causó grandes brotes en islas del Océano Índico, entre los que cabe destacar el brote de la isla La Reunión<sup>39</sup>.

Como consecuencia de esta expansión epidémica, numerosos países comenzaron a detectar infecciones por chikungunya en sus viajeros. Uno de ellos proveniente de la India dio lugar a una epidemia de la enfermedad en Italia en 2007<sup>40</sup>, donde se detectaron más de 200 casos y el vector responsable de la transmisión fue *Aedes albopictus*. Este evento alertó sobre el riesgo de introducción de CHIKV en zonas hasta ahora libres de enfermedad y posteriormente, en los años 2010 y 2014 se notificaron algunos casos autóctonos en Francia<sup>41,42</sup>. En 2017 se reportaron nuevamente casos en Francia y un brote epidémico en Italia<sup>43,44</sup>.

En 2013 el CHIKV se introdujo en el continente Americano, detectándose su transmisión rápidamente en más de 45 países y causando más de 1,7 millones de casos. Se ha establecido de forma endémica en el continente Americano, si bien tras la explosiva epidemia inicial ahora circula a un nivel notablemente más bajo.

## Transmisión

La transmisión de CHIKV depende de los mosquitos del género *Aedes*. En África predominan los ciclos enzoóticos que afectan a primates no-humanos, en los cuales diferentes especies de *Aedes* han sido descritas como posibles transmisores (*Ae. africanus*, *Ae. furcifer*, *Ae. Taylori*, etc...) mientras que en Asia predominan los ciclos de transmisión urbana en los que *Ae. aegypti* es el principal vector, seguido de *Ae. Albopictus*<sup>45</sup>. Debido a su hábitat natural *Ae. albopictus* suele ser vector en ciclos rurales o epizooticos, no obstante, en las zonas donde no se ha detectado presencia de *Ae. aegypti* se ha constatado que *Ae. albopictus* ha tenido el papel de principal vector en ciclos urbanos.

En el brote descrito en la isla La Reunión en 2005 se detectó que las cepas presentaban una mutación de la glicoproteína E1 en la posición 226 (mutación A226V9). Esta mutación aumentaba la eficiencia como vector de *Ae. albopictus*<sup>46</sup>, pudiendo detectar el virus en las glándulas salivares del mosquito a partir del día 2 post-infección (suponiendo una reducción del periodo de incu-

bación extrínseco). Esta mutación aumenta la capacidad vectorial de *Ae. albopictus*, que cuenta con una distribución geográfica más amplia, lo que podría haber contribuido a la expansión de CHIKV en los últimos años.

Además de la transmisión vectorial, se han descrito casos de transmisión vertical de CHIKV, con una mayor tasa de transmisión cuando más cerca esté el momento del parto. La morbimortalidad de estos casos es elevada<sup>47</sup>. No hay evidencia de transmisión sexual, a pesar de haberse encontrado el virus en semen<sup>48</sup>, ni tampoco transmisión durante la lactancia.

Otra vía de transmisión sería la exposición laboral a sangre de pacientes infectados y las transfusiones sanguíneas o los trasplantes de órganos en los que el donante estuviese infectado<sup>49</sup>.

## Diagnóstico

El cuadro clínico de la infección por CHIKV cursa con fiebre, rash y unas artralgias muy incapacitantes que se pueden acabar cronificando. No todos los pacientes muestran todos los síntomas ni con la misma intensidad, por lo que la clínica no permite diferenciar bien el cuadro de otras arbovirosis.

El diagnóstico de laboratorio puede alcanzarse mediante técnicas de RT-PCR en el periodo virémico, hasta 8 días tras el inicio de los síntomas, o mediante aislamiento del virus<sup>50</sup>. Actualmente, aunque existen algunos ensayos, no existen técnicas de detección de antígeno ampliamente utilizadas para el diagnóstico de CHIKV de la forma que ocurre para DENV.

El diagnóstico serológico se basa en la detección de anticuerpos IgM e IgG. La IgM aparece aproximadamente a los 5 días tras el inicio de los síntomas, pudiendo persistir durante semanas o meses. La conversión de IgG puede observarse a partir de las dos semanas desde la infección y puede mantenerse positiva de por vida.

Los criterios de laboratorio para el diagnóstico de casos de infección por CHIKV son los descritos en la Tabla 2<sup>34</sup>.

**Tabla 2. Criterios de laboratorio para el diagnóstico de virus chikungunya y Zika.**

Chikungunya y Zika probables	Chikungunya y Zika confirmados
Una de las siguientes: - IgM positiva aislada	Una de las siguientes: - RT-PCR positiva - Cultivo viral positivo - Seroconversión o aumento de cuatro veces el título en muestras pareadas - Detección de IgM específica y confirmación por neutralización

## Zika

El virus Zika (ZIKV) es un virus del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. Se conocen dos linajes del mismo, uno africano y otro asiático, siendo este último el predominante y el causante de las últimas epidemias<sup>51,52</sup>. Algunos estudios sugieren la existencia de un tercer linaje (África 2) que representaría una etapa intermedia entre las cepas africanas y las cepas asiáticas<sup>53</sup>. Se consideraba un arbovirus de escaso potencial patógeno<sup>54</sup> hasta que las últimas epidemias han mostrado su relación con la microcefalia en hijos de mujeres infectadas durante el embarazo, y con el síndrome de Guillain Barre.

## Distribución geográfica

ZIKV fue descrito por primera vez en 1947 en el bosque Zika en Uganda, donde se llevaban a cabo estudios sobre el ciclo enzoótico de la fiebre amarilla subvencionados por la Fundación Rockefeller<sup>55</sup>. El virus se aisló por primera vez en un primate no humano, y no fue hasta 1954 cuando se describieron los primeros casos en humanos en Nigeria. En los años posteriores se diagnosticaron casos esporádicos en África. La primera detección del virus en Asia ocurrió en Malasia en 1966. Los estudios de seroprevalencia parecían mostrar una amplia distribución del virus en África y Asia<sup>56</sup>, si bien el número de casos de enfermedad en humanos descrito era muy bajo<sup>57,58</sup>.

En 2007 tuvo lugar el que fue el primer brote importante de la enfermedad, en la isla de Yap (Micronesia)<sup>59</sup>. Estudios de seroprevalencia mostraron que cerca del 75% de la población se vio afectada por el mismo.

A partir del año 2013 se detectó la presencia de Zika en la Polinesia Francesa, tras una introducción probablemente desde el sudeste asiático<sup>60</sup>. A finales de 2014 aparecieron los primeros casos de ZIKV en el nordeste de Brasil y el virus continuo su expansión dando lugar a una epidemia de grandes dimensiones<sup>61</sup>. Además, la asociación de la infección por ZIKV con los casos de microcefalia provocaron la declaración de una emergencia de salud pública de importancia internacional (ESPII) por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en febrero de 2016.

En los últimos años también se han detectado brotes de ZIKV en África (Cabo Verde) y Singapur<sup>62,63</sup>.

## Transmisión

Al igual que DENV y CHIKV, ZIKV se transmite por la picadura de la hembra de mosquito *Aedes* infectada. Se han descrito múltiples especies dentro del género *Aedes* como vectores potenciales de este virus, pero se considera que el principal vector es

*Ae. aegypti*. El mosquito *Ae. albopictus* también parece ser capaz de transmitir la enfermedad y *Aedes hensilii* se postula como el vector principal en el brote de Yap<sup>64</sup>, donde era la especie de mosquito más abundante. En el brote de la Polinesia Francesa además de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, *Ae. polynesiensis* también pudo actuar como vector. Se han realizado múltiples estudios sobre mosquitos naturalmente infectados y sobre la capacidad de diferentes especies para transmitir el virus, sin embargo, aún está por determinar la capacidad de algunas especies del género *Aedes* y de otros géneros vectoriales como transmisores de ZIKV<sup>65</sup>. Los estudios con mosquitos del género *Culex*, aunque algunos presentan resultados contradictorios, no parecen indicar que el virus pueda transmitirse por estos vectores.

Hasta las más recientes epidemias, se creía que ZIKV se mantenía en ciclos selváticos en primates, siendo los humanos huéspedes terminales. No obstante, la ausencia de primates en el brote de Yap y la rápida expansión observada en los recientes brotes hacen pensar que se ha desarrollado un ciclo urbano de transmisión<sup>66</sup>.

La irrupción de ZIKV a nivel global ha supuesto un cambio de paradigma, ya que se trata del primer arbovirus que además de por vía vectorial, ha demostrado consistentemente transmitirse también por vía sexual. Esta transmisión se ha descrito principalmente de hombres a mujeres<sup>66</sup>, pero también de mujeres a hombres<sup>67</sup> y entre hombres<sup>68</sup>. Una revisión sistemática de los casos descritos prueba que es una vía de transmisión válida y que la transmisión puede darse a partir de pacientes asintomáticos y largo tiempo después de haber estado expuesto al virus<sup>69</sup>.

Inicialmente la OMS y los *Centers for Disease Control* (CDC) recomendaban un periodo de ocho semanas de relaciones protegidas para evitar la transmisión por vía sexual, que posteriormente y tras analizar los datos que se iban obteniendo, se aumentó a seis meses tras la presentación de los síntomas o desde el momento en el que acabó la posible exposición al virus<sup>70</sup>. Recientemente CDC ha publicado sus nuevas recomendaciones, en donde rebajan a tres meses el periodo a esperar antes de tener relaciones sexuales desprotegidas<sup>71</sup>. En el caso de embarazo, se recomienda abstinencia o relaciones protegidas durante todo el embarazo por el riesgo de afectación fetal en caso de infección.

En los casos de ZIKV puede observarse transmisión vertical durante el embarazo. La transmisión intrauterina de la infección puede dar lugar a malformaciones fetales, siendo la microcefalia una de las manifestaciones más características. En estos casos, el ZIKV se ha podido aislar en líquido amniótico, placenta y tejidos fetales<sup>72</sup>. El efecto de haber padecido infecciones seriadas por *flavivirus* es difícil de determinar y no está claro en la actualidad, aunque algunos estudios sugieren que infecciones previas por dengue podrían aumentar la posibilidad de efectos adversos

por Zika<sup>73</sup>. También se ha descrito la presencia de partículas virales en la leche materna, si bien no se ha podido establecer su potencial infectivo<sup>74</sup>. La transmisión intrauterina se ha descrito también para otros *arbovirus*, incluyendo los analizados en esta revisión. No obstante, aunque se han descrito casos puntuales de pérdidas fetales y algún caso de afectación del recién nacido tras la infección, ninguno de ellos se ha asociado a malformaciones del mismo modo que ZIKV<sup>75</sup>.

Finalmente, al igual que en otros *arbovirus*, la transmisión puede deberse a la exposición laboral a muestras infectivas, por transfusiones sanguíneas o por trasplantes de órganos<sup>76</sup>.

## Diagnóstico

La infección por ZIKV se caracteriza por fiebre, rash, artralgias y conjuntivitis no purulenta, si bien las infecciones asintomáticas se consideran muy frecuentes y podrían ser mayoritarias. La clínica puede ser similar a la de otras arbovirosis, por lo que es necesario realizar un diagnóstico etiológico mediante técnicas de laboratorio.

Al igual que el resto de arbovirosis tratadas en esta revisión, el diagnóstico de ZIKV puede alcanzarse mediante técnicas directas, dentro de las cuales destaca la RT-PCR que puede ser positiva en sangre durante una semana y en orina hasta 10-20 días después del inicio de los síntomas. ECDC emitió unas recomendaciones iniciales sobre el tipo de muestra a analizar en función del tiempo desde el inicio de los síntomas<sup>77</sup>. No obstante, nuevos estudios muestran una ventana de detección más amplia de la recomendada al comienzo de la epidemia<sup>78,79</sup>. Un reciente estudio muestra que la RT-PCR puede persistir positiva en suero hasta 2 semanas después del inicio de los síntomas, siendo mucho más amplio en mujeres embarazadas<sup>80</sup>; y hasta una semana en orina, por lo que las recomendaciones actuales de los CDC se han adaptado a estos datos y recomiendan testar suero y orina hasta 14 días después del inicio de los síntomas<sup>81</sup>. El empleo de sangre total en lugar de suero también parece aumentar la sensibilidad y la ventana de detección<sup>82</sup>. En el caso de las embarazadas, se recomienda la realización de RT-PCR hasta 12 semanas después de los síntomas o de la exposición en los casos asintomáticos, debido a las viremias prolongadas que se han descrito en este grupo de pacientes.

Además de en suero y orina, se ha detectado la presencia de RNA de ZIKV en otras muestras biológicas como saliva y líquido cefalorraquídeo<sup>80,83</sup>. Se ha puesto especial énfasis en la detección del virus en muestras genitales, debido a su potencial transmisión por vía sexual. Las muestras de exudado vaginal no parecen ser positivas durante un largo periodo de tiempo<sup>80</sup>, mientras que el virus se ha encontrado en semen en periodos superiores a los

6 meses<sup>84</sup>. La detección de RNA no es sinónimo de virus viable e infectivo, y el periodo máximo de detección de virus viable es de 69 días<sup>85,86</sup>, aunque la mayoría de estudios no muestran infectividad más allá de los 30 días<sup>87</sup>.

El diagnóstico serológico se basa en la detección de anticuerpos IgM e IgG frente al virus. La IgM aparece a partir del 5º día y en caso de ser positiva se recomienda una nueva toma 2-3 semanas después para evaluar la seroconversión. La IgM podría mantenerse negativa en caso de haber padecido una infección por DENV previamente<sup>88</sup>. Algunos estudios han descrito la posibilidad de que en algunos casos no se observe seroconversión, lo cual podría implicar que no se pueda llegar al diagnóstico del cuadro en algunos casos<sup>89</sup>. La alta tasa de reacciones cruzadas con anticuerpos frente a DENV hace que el diagnóstico serológico sea difícil y requiere el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico serológico que minimicen las reacciones cruzadas. Se recomienda la realización de pruebas de neutralización para alcanzar un diagnóstico más certero, pero son técnicas laboriosas, complejas y limitadas a laboratorios de referencia, por lo que no son de utilidad para el diagnóstico rutinario. Además, estas técnicas requieren la realización en paralelo de dos muestras, una aguda y otra convaleciente, y el estudio en paralelo de la reacción frente a todos los *flavivirus* circulantes en la zona, por lo que la interpretación de las mismas resulta compleja.

Los criterios de laboratorio para el diagnóstico de infecciones por ZIKV se muestran en la Tabla 2<sup>34</sup>.

## Virus del Nilo Occidental

El virus del Nilo Occidental (VNO) es un *arbovirus* del género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. Se han descrito diversos linajes, de los cuales los linajes 1 y 2 son los principales causantes de brotes en humanos. El linaje 1 se divide a su vez en tres sublinajes: 1a, localizado en África, Oriente Medio, Europa y América; 1b, llamado también virus Kunjin, que circula en ciclos enzoóticos en Australia, y el 1c localizado en India. El linaje 2 circula en ciclos enzoóticos en África y se ha descrito en los últimos años en Europa Central<sup>90</sup> y recientemente en aves en Cataluña<sup>91</sup>. Los linajes 3 y 4 se han descrito en Europa pero su importancia médica está por determinar y el linaje 5 parece estar presente únicamente en India<sup>9</sup>.

## Distribución geográfica

El VNO se aisló por primera vez en Uganda en 1937 y fue causante de brotes esporádicos en África, Asia y Australia. Posteriormente se detectó su circulación en el sur de Europa. En 1999 se detectó su presencia en Nueva York por primera vez y en los años posteriores se expandió rápidamente por todos los Estados

Unidos, América Central, Sudamérica y Canadá, dando lugar a una epidemia con miles de personas afectadas<sup>6</sup>.

Así, hoy en día, el VNO presenta una extensa distribución a nivel mundial, estando presente en el sur de Europa, América, África, Oriente Medio, Rusia occidental, sudeste asiático y Australia, debido probablemente a la capacidad del virus de infectar numerosas especies de mosquitos y aves<sup>92</sup>. La introducción, epidemia y posterior establecimiento endémico del VNO en Estados Unidos es un claro ejemplo del potencial emergente de un arbovirus. Se han producido varios brotes de VNO durante las últimas décadas. Por ejemplo, se diagnosticaron casos autóctonos de fiebre humana del Nilo Occidental en 2010-2015 en Grecia e Italia, 624 y 148 casos respectivamente<sup>93</sup>. Durante el año 2018, se produjo un número récord de casos con más de 1500 infecciones humanas por VNO y un total de 180 muertes en Europa<sup>94</sup> siete veces más que el número de infecciones reportadas en el año anterior.

En España se tiene constancia de la circulación de al menos tres linajes: 1, 2 y 4<sup>95,91,96</sup>. El primer caso humano se describió en 2004, y el primer brote en humanos y caballos en 2010. En 2016 se dio otro brote en Andalucía<sup>97</sup> y recientemente se ha diagnosticado un caso importado de Rumanía de VNO linaje 2 (datos sin publicar), probablemente relacionado con el mayor número de casos detectados en Europa durante 2018<sup>97,98</sup>. Además de los casos en humanos, se han ido produciendo brotes anuales en caballos desde 2016 y hay datos serológicos que sustentan la presencia del virus en aves en Andalucía. Todos los casos observados en humanos y animales, así como las evidencias obtenidas en estudios de seroprevalencia indican que el VNO circula en nuestro medio, si bien parece que a un nivel bajo<sup>99</sup>.

## Transmisión

El VNO se mantiene en la naturaleza en un ciclo enzoótico entre aves y mosquitos, y puede infectar a un amplio rango de animales vertebrados. El ser humano y animales como los caballos se consideran huéspedes terminales, es decir, pueden infectarse y sufrir la enfermedad pero no participan en el mantenimiento natural del virus, ya que la viremia es insuficiente para contagiar a nuevos mosquitos. Los huéspedes que sí desarrollan altos niveles de viremia y que permiten el mantenimiento del ciclo son las aves.

El VNO se ha detectado en diferentes géneros de mosquitos, como *Culex* y *Aedes*<sup>92</sup>. Todos ellos pueden ser vectores competentes, pero se ha demostrado que los principales vectores de la enfermedad y quienes permiten el mantenimiento del ciclo enzoótico son los mosquitos del género *Culex*<sup>100</sup>. Estos vectores presentan una distribución cosmopolita. En regiones tropicales la transmisión se da durante todo el año, mientras que en regiones

templadas los casos tienen lugar durante el pico de actividad de los mosquitos *Culex*, normalmente entre agosto y septiembre<sup>101</sup>.

Otras vías de transmisión menos frecuentes que la vectorial son la transmisión por accidentes de laboratorio, transfusión de sangre o trasplante de órganos<sup>102,103</sup>. Si bien estas formas de transmisión son minoritarias y no producen un riesgo de expansión del virus, tienen importancia a nivel de salud pública, ya que en zonas donde circule el virus podría ser necesario el cribado de donantes. En el caso de mujeres embarazadas, se ha descrito la transmisión intrauterina y por lactancia materna<sup>104</sup>.

## Diagnóstico

La infección por VNO es asintomática hasta en el 80% de los casos. Aproximadamente un 20% de las infecciones cursan con un síndrome febril similar al de otras arbovirosis y menos del 1% de los casos desarrolla una enfermedad neuroinvasiva potencialmente mortal.

Durante la fase febril se puede detectar el VNO por RT-PCR en suero, aproximadamente durante una semana tras el inicio de los síntomas, aunque en algunos casos se ha descrito una viremia de hasta 13 días. No obstante, la viremia es de baja intensidad y aclara rápidamente por lo que el cultivo viral pocas veces obtiene un resultado positivo<sup>105</sup>. Algunos estudios sugieren que el uso de sangre total en vez de suero podría aumentar la sensibilidad y la detección de VNO en orina mediante RT-PCR también podría ser un método para alargar el periodo de detección<sup>106,107</sup>.

Debido a esta corta duración y baja intensidad de la viremia, en el caso de VNO la mayoría de diagnósticos se realizan mediante pruebas serológicas. La mediana de tiempo desde la detección de ARN a la seroconversión de IgM e IgG es de 4 y 8 días respectivamente<sup>105</sup>. La detección de IgM en un contexto de cuadro clínico compatible se considera indicativo de infección reciente, aunque pueden persistir positivas hasta un año después de la infección. Las pruebas serológicas muestran una gran reactividad cruzada con los anticuerpos dirigidos frente a otros *flavivirus* (virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis de Sant Louis, virus Usutu), por lo que normalmente deben confirmarse mediante ensayos de neutralización. En general, dada la reactividad cruzada en las pruebas serológicas, se recomiendan intentar la detección por RT-PCR en suero, sangre total y orina, a fin de obtener un diagnóstico de confirmación.

Los criterios diagnósticos de laboratorio para las infecciones por VNO se muestran en la Tabla 3<sup>34</sup>.

En las infecciones con afectación del sistema nervioso central, la fase de viremia precede al inicio de los síntomas neurológicos, por lo que una vez establecidos éstos la RT-PCR en suero es de escaso valor diagnóstico. No obstante, podría detectarse el virus en líquido cefalorraquídeo, así como IgM. La detección de IgM en

**Tabla 3. Criterios de laboratorio para el diagnóstico de virus del Nilo Occidental.**

Virus del Nilo Occidental probable	Virus del Nilo Occidental confirmado
Una de las siguientes: - Respuesta serológica frente a VNO en suero	Una de las siguientes: - RT-PCR positiva - Cultivo viral positivo - Detección de IgM específica en líquido cefalorraquídeo - Detección de IgM específica a título alto y detección de IgG con confirmación por neutralización

líquido cefalorraquídeo de pacientes con encefalitis en los que se han excluido otras causas es altamente predictiva de encefalitis por VNO, especialmente si se demuestra la integridad de la barrera hematoencefálica (síntesis intratecal de IgM).

## Conclusiones

Los virus tratados en esta revisión han sufrido una gran expansión en los últimos años, causando brotes epidémicos en lugares libres de los mismos hasta el momento<sup>6-8</sup>. Ser conscientes del riesgo de introducción de estos virus y conocer sus presentaciones clínicas es de vital importancia para reconocer cuadros clínicos sugestivos en zonas no endémicas y poder realizar un correcto diagnóstico y manejo de los mismos.

Actualmente en España se ha detectado VNO de linaje 1, dando casos esporádicos o brotes en caballos y seres humanos<sup>97,108</sup>, VNO linaje 4<sup>96</sup> y recientemente se ha detectado también la presencia de VNO de linaje 2 en un ave en Cataluña<sup>91</sup>. En 2018 se han registrado los primeros casos por transmisión autóctona de dengue<sup>22</sup>. En el caso de chikungunya y Zika no se han descrito aún casos autóctonos por transmisión vectorial (sí se ha descrito transmisión de Zika por vía sexual), pero se han detectado numerosos casos importados sobre todo en los años de mayor actividad epidémica<sup>109-111</sup>, lo cual unido a la expansión de un vector potencial de estas infecciones como es *Ae. albopictus* hace que el riesgo de transmisión local de estos virus en nuestro medio no sea nada despreciable<sup>112</sup>, tal y como ha ocurrido en otros países de nuestro entorno.

Los arbovirus son un problema de salud pública a nivel mundial y la aparición de nuevas epidemias y nuevos virus es difícil de predecir. No obstante, no hay que bajar el nivel de alerta, ya que una rápida identificación y un correcto diagnóstico de los casos es primordial para poder llevar a cabo campañas de control que limiten los posibles brotes epidémicos.

## Bibliografía

1. Scherer WF. International Catalogue of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates. *Am J Trop Med Hyg.* 1976;25(1):204–5.
2. Go YY, Balasuriya UBR, Lee C. Zoonotic encephalitides caused by arboviruses: transmission and epidemiology of alphaviruses and flaviviruses. *Clin Exp Vaccine Res.* 2014;3(1):58.
3. Sukhralia S, Verma M, Gopirajan S, Dhanaraj PS, Lal R, Mehla N, et al. From dengue to Zika: the wide spread of mosquito-borne arboviruses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(1):3–14.
4. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature.* 2013;496(7446):504–7.
5. Kramer LD, Styer LM, Ebel GD. A Global Perspective on the Epidemiology of West Nile Virus. *Annu Rev Entomol.* 2008;53(1):61–81.
6. Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med.* 2001;344(24):1807–14.
7. Burt FJ, Chen W, Miner JJ, Lenschow DJ, Merits A, Schnettler E, et al. Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(4):e107–17.
8. Chang C, Ortiz K, Ansari A, Gershwin ME. The Zika outbreak of the 21st century. *J Autoimmun.* 2016;68:1–13.
9. Weaver SC, Reisen WK. Present and Future Arboviral Threats. *Antiviral Research.* 2010;85:1–36.
10. Marm Kilpatrick A, Randolph SE, Kilpatrick M, Randolph SE. Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. 2013;380(9857):1946–55.
11. Liang G, Gao X, Gould EA. Factors responsible for the emergence of arboviruses; strategies, challenges and limitations for their control. *Emerg Microbes Infect.* 2015;4(3):1–5.
12. Lambert AJ, Lanciotti RS. Laboratory Diagnosis of Arboviruses. In: *Arboviruses: Molecular Biology, Evolution and Control.* Caister Academic Press; 2016. p. 271–80.
13. Negrodo Antón AI, De Ory Manchón F, Sánchez-Seco Fariñas MP, Franco Narváez L, Gegúndez Cámara MI, Navarro JM, et al. Diagnóstico microbiológico de arbovirosis y robovirosis emergentes. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015;33(3):197–205.
14. Charrel RN. Diagnosis of arboviral infections e A quagmire of cross reactions and complexities. *Travel Med Infect Dis.* 2016;14(1):11–12.
15. Barzon L. Ongoing and emerging arbovirus threats in Europe. *J Clin Virol.* 2018;107:38–47.
16. Mustafa MS, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Med journal, Armed Forces India.* 2015;71(1):67–70.
17. Halstead SB. The XXth century dengue pandemic: need for surveillance and research. *World Health Stat Q.* 1992;45(2–3):292–8.
18. Succo T, Leparç-Goffart I, Ferré J, Roiz D, Broche B, Maquart M, et al. Autochthonous dengue outbreak in Nîmes. *Euro Surveill.* 21(21):30240.
19. Gjenero-Margan I, Aleraj B, Krajcar D, Lesnikar V, Klobučar A, Pem-Novosel I, et al. Autochthonous dengue fever in Croatia, August–September 2010. *Eurosurveillance.* 2011;16(9):1–4.
20. Tomasello D, Schlegelhauf P. Chikungunya and dengue autochthonous cases in Europe, 2007–2012. *Travel Med Infect Dis.* 2013;11(5):274–84.
21. Sousa CA, Clairouin M, Seixas G, Viveiros B, Novo MT, Silva AC, et al. Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: Preliminary report. *Eurosurveillance.* 2012;17(49):8–11.
22. European centre for disease prevention and control. Local transmission of dengue fever in France and Spain - 2018. Stockholm: ECDC; 2018.
23. Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQ, Shearer FM, Barker CM, et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *Elife.* 2015;4.
24. Gould E, Pettersson J, Higgs S, Charrel R, de Lamballerie X. Emerging arboviruses: Why today? *One Heal.* 2017;4:1–13.
25. European centre for disease prevention and control. *Aedes albopictus* - Factsheets for experts [Internet]. Factsheets for experts. 2016 [cited 2019 Aug 2]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-albopictus>
26. Ryan SJ, Carlson CJ, Mordecai EA, Johnson LR. Global expansion and redistribution of Aedes-borne virus transmission risk with climate change. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;13(3):1–20.
27. Guzman MG, Gubler DJ, Izquierdo A, Martinez E, Halstead SB. Dengue infection. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2:1–26.
28. Pedrosa PB, Cardoso TA. Viral infections in workers in hospital and research laboratory settings: a comparative review of infection modes and respective biosafety aspects. *Int J Infect Dis.* 2011;15(6):e366–76.
29. Wiwanitkit V. Unusual mode of transmission of dengue. *J Infect Dev Ctries.* 2010;4(01):051–4.
30. World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. *Spec Program Res Train Trop Dis.* 2009;147.
31. Tang KF, Ooi EE. Diagnosis of dengue: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012;10(8):895–907.
32. Peeling RW, Artsob H, Pelegrino JL, Buchy P, Cardoso MJ, Devi S, et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(12supp):S30–7.
33. Guzman MG, Alvarez M, Halstead SB. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: An historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch Virol.* 2013;158(7):1445–59.
34. Commission implementing decision (EU) 2018/945. On the communicable diseases and related special health issues to be covered by epidemiological surveillance as well as relevant case definitions En <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0945&from=EN#page=10>. Acceso 17, octubre, 2019.
35. Pan American Health Organization, World Health Organization. Zika virus (ZIKV) Surveillance in the Americas: Laboratory detection and diagnosis. Algorithm for detecting Zika virus (ZIKV) [Internet].

- En <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2015-cha-algorithm-detecting-zikv.pdf>. Acceso 17, octubre, 2019.
36. Weaver SC, Forrester NL. Chikungunya: Evolutionary history and recent epidemic spread. *Antiviral Res.* 2015;120:32–9.
  37. Ross RW. The Newala Epidemic. *J Hyg.* 1956;54(2):177–91.
  38. Halstead SB. Reappearance of chikungunya, formerly called Dengue, in the Americas. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(4):557–61.
  39. Borgherini G, Poubeau P, Staikowsky F, Lory M, Moullec NL, Becquart JP, et al. Outbreak of Chikungunya on Reunion Island: Early Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. *Clin Infect Dis.* 2007;44(11):1401–7.
  40. Rezza G, Nicoletti L, Angelini R, Romi R, Finarelli A, Panning M, et al. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet.* 2007;370(9602):1840–6.
  41. Grandadam M, Caro V, Plumet S, Thiberge JM, Souarès Y, Failloux AB, et al. Chikungunya virus, Southeastern France. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(5):910–3.
  42. Delisle E, Rousseau C, Broche B, Leparac-Goffart I, Lambert G, Cochet A, et al. Chikungunya outbreak in Montpellier, France, September to October 2014. *Eurosurveillance.* 2015;20(17):21108.
  43. Lindh E, Argentini C, Remoli ME, Fortuna C, Faggioni G, Benedetti E, et al. The Italian 2017 outbreak chikungunya virus belongs to an emerging aedes albopictus-adapted virus cluster introduced from the Indian subcontinent. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(1).
  44. Calba C, Guerbois-Galla M, Franke F, Jeannin C, Auzet-Caillaud M, Grard G, et al. Preliminary report of an autochthonous chikungunya outbreak in France. *Euro Surveill.* 2017;22(39).
  45. Higgs S, Vanlandingham D. Chikungunya Virus and Its Mosquito Vectors. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2015;15(4):231–40.
  46. Tsetsarkin KA, Vanlandingham DL, McGee CE, Higgs S. A single mutation in Chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential. *PLoS Pathog.* 2007;3(12):1895–906.
  47. Ramful D, Carbonnier M, Pasquet M, Bouhmani B, Ghazouani J, Noormahomed T, et al. Mother-to-child transmission of chikungunya virus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26(9):811–5.
  48. Carlos A, Soares G, França V, Rocha D, Solano B, Souza DF, et al. IDCases Prolonged shedding of Chikungunya virus in semen and urine : A new perspective for diagnosis and implications for transmission. *ID Cases.* 2016;6:100–3.
  49. Shah KV, Baron S. Laboratory infection with chikungunya virus: a case report. *Indian J Med Res.* 1965;53(7):610–3.
  50. Johnson BW, Russell BJ, Goodman CH. Laboratory Diagnosis of Chikungunya Virus Infections and Commercial Sources for Diagnostic Assays. *J Infect Dis.* 2016;214(suppl 5):S471–4.
  51. Beaver JT, Lelutiu N, Habib R, Skountzou I. Evolution of two major Zika virus lineages: Implications for pathology, immune response, and vaccine development. *Frontiers in Immunology.* 2018;9:1640.
  52. Wang L, Valderramos SG, Wu A, Ouyang S, Li C, Brasil P, et al. From Mosquitos to Humans: Genetic Evolution of Zika Virus. Vol. 19, *Cell Host and Microbe.* 2016;19: 561–5.
  53. Gubler DJ, Vasilakis N, Musso D. History and Emergence of Zika Virus. *J Infect Dis.* 2017;216(Suppl 10):S860–7.
  54. Simpson DIH. Zika virus infection in man. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1964;58(4):335–8.
  55. Dick GW, Kitchen S., Haddock A. Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952;46(5):509–20.
  56. Wikan N, Smith DR. Review Zika virus: history of a newly emerging arbovirus. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:e119–26.
  57. Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. Vol. 83, *J Hyg Camb.* 1979.
  58. Olson JG, Ksiazek TG, Suhandiman, Triwibowo. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1981; 75(3):389–93.
  59. Duffy M, Chen T, Hancock T, Powers A, Kool J, Lanciotti R, Pretrick M. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536–43.
  60. Musso D, Bossin H, Mallet HP, Besnard M, Broult J, Baudouin L, et al. Review Zika virus in French Polynesia 2013–14: anatomy of a completed outbreak. *Lancet Infect Dis.* 2018;18:e172–82.
  61. Pan American Health Organization. Zika cases and congenital syndrome associated with Zika virus reported by countries and territories in the Americas, 2015–2018 En [[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&view=download&category\\_slug=casos-acumulados-pdf-8866&alias=43298-casos-acumulados-zika-4-enero-2018-298&Itemid=270&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=casos-acumulados-pdf-8866&alias=43298-casos-acumulados-zika-4-enero-2018-298&Itemid=270&lang=es)]. Acceso 17, octubre, 2019
  62. Monteiro Rodrigues J, Lourenço J, Rodrigues Faria N, Tomás T, Monteiro M, Pybus O. Epidemiology of the Zika Virus Outbreak in the Cabo Verde Islands, West Africa. *PLoS Curr.* 2018;1–7.
  63. Ho ZJM, Hapuarachchi HC, Barkham T, Chow A, Ng LC, Lee JMV, et al. Outbreak of Zika virus infection in Singapore: an epidemiological, entomological, virological, and clinical analysis. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(8):813–21.
  64. Ledermann JP, Guillaumot L, Yug L, Saweyog SC, Tided M. Aedes hensilli as a Potential Vector of Chikungunya and Zika Viruses. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(10):3188.
  65. Epelboin Y, Talaga S, Epelboin L, Dusfour I. Zika virus: An updated review of competent or naturally infected mosquitoes. Vol. 11, *PLoS Neglected Tropical Diseases.* *PLoS Negl Trop Dis* 2017; 11(11): e0005933.
  66. Russell K, Hills SL, Oster AM, Porse CC, Danyluk G, Cone M, et al. Male-to-female sexual transmission of zika virus-United States, January-April 2016. *Clin Infect Dis.* 2017;64(2):211–3.
  67. Davidson A, Slavinski S, Komoto K, Rakeman J, Weiss D. Suspected female-to-male sexual transmission of zika virus — New York city, 2016. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(28):716–7.
  68. Trew Deckard D, Chung WM, Brooks JT, Smith JC, Woldai S, Hennessey M, et al. Male-to-male sexual transmission of Zika virus — Texas, January 2016. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(14):372–4.
  69. Moreira J, Peixoto TM, Siqueira AM, Lamas CC. Sexually acquired Zika virus: a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(5):296–305.
  70. World Health Organization. Prevention of sexual transmission of Zika virus Interim guidance update. En [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2015\\_terminology\\_guidel](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2015_terminology_guidel). Acceso 17, octubre, 2019.

71. Polen KD, Gilboa SM, Hills S, Oduyebo T, Kohl KS, Brooks JT, *et al.* Update: Interim Guidance for Preconception Counseling and Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus for Men with Possible Zika Virus Exposure — United States, August 2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2018;67(31).
72. Doenças E, Agudas F, Calvet G, De Flavivírus L, Cruz O, Bsc A, *et al.* Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:653–60.
73. Hermanns K, Göhner C, Kopp A, Schmidt A, Waltraut M, Markert UR, *et al.* Zika virus infection in human placental tissue explants is enhanced in the presence of dengue virus antibodies in-vitro. Zika virus infection in human placental tissue explants is enhanced in the presence of dengue virus antibodies in-vitro. *Emerg Microbes Infect.* 2019;17:51.
74. Colt S, Garcia-Casal MN, Peña-Rosas JP, Finkelstein JL, Rayco-Solon P, Weise Prinzo ZC, *et al.* Transmission of Zika virus through breast milk and other breastfeeding-related bodily-fluids: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(4).
75. Charlier C, Beaudoin MC, Couderc T, Lortholary O, Lecuit M. Arboviruses and pregnancy: maternal, fetal, and neonatal effects. *Lancet Child Adolesc Heal.* 2017;1(2):134–46.
76. Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, *et al.* Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Eurosurveillance.* 2014;19(14):20761.
77. European centre for disease prevention and control. Interim guidance for healthcare providers and Zika virus laboratory diagnosis En <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/zika-virus-guidance-healthcare-providers-and-laboratory-diagnosis.pdf>. Acceso el 17, octubre, 2019.
78. Sánchez-Montalvá A, Pou D, Sulleiro E, Salvador F, Bocanegra C, Treviño B, *et al.* Zika virus dynamics in body fluids and risk of sexual transmission in a non-endemic area. *Trop Med Int Heal.* 2018;23(1):92–100.
79. Alejo-Cancho I, Torner N, Oliveira I, Martínez A, Muñoz J, Jane M, *et al.* Twenty-four cases of imported Zika virus infections diagnosed by molecular methods. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;86(2):160–2.
80. Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Doyle K, Munoz-Jordan J, Santiago GA, Klein L, *et al.* Persistence of Zika Virus in Body Fluids — Final Report. *N Engl J Med.* 2018;379(13):1234–43.
81. Centers for Disease Control and Prevention. Testing Guidance. Zika Virus. 2017.
82. Mansuy JM, Mengelle C, Pasquier C, Chapuy-Regaud S, Delobel P, Martin-Blondel G, *et al.* Zika virus infection and prolonged viremia in whole-blood specimens. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(5):863–5.
83. Rozé B, Najjioullah F, Signate A, Apetse K, Brouste Y, Gourgoudou S, *et al.* Zika virus detection in cerebrospinal fluid from two patients with encephalopathy, Martinique, February 2016. *Eurosurveillance.* 2016;21(16):pii=30205.
84. Barzon L, Pacenti M, Franchin E, Lavezzo E, Trevisan M, Sgarabotto D, *et al.* Infection dynamics in a traveller with persistent shedding of Zika virus RNA in semen for six months after returning from Haiti to Italy, January 2016. *Eurosurveillance.* 2016;21(32):30316.
85. García-Bujalance S, Gutiérrez-Arroyo A, De la Calle F, Díaz-Menéndez M, Arribas JR, García-Rodríguez J, *et al.* Persistence and infectivity of Zika virus in semen after returning from endemic areas: Report of 5 cases. *J Clin Virol.* 2017;96:110–5.
86. Arsuaga M, García Bujalance S, Díaz-Menéndez M, Vázquez A, Arribas JR. Probable sexual transmission of Zika virus from a vasectomised man. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:1107.
87. Joguet G, Mansuy J-M, Matusali G, Hamdi S, Walschaerts M, Pavili L, *et al.* Effect of acute Zika virus infection on sperm and virus clearance in body fluids: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis* 2017;17:1200–08
88. Barzon L, Percivalle E, Pacenti M, Rovida F, Zavattoni M, Del Bravo P, *et al.* Virus and Antibody Dynamics in Travelers With Acute Zika Virus Infection. *Clin Infect Dis.* 2018;66(8):1173–80.
89. Lustig Y, Cotar AI, Ceianu CS, Castillett C, Zelena H, Burdino E, *et al.* Lack of Zika virus antibody response in confirmed patients in non-endemic countries. *J Clin Virol.* 2018;99–100:31–4.
90. Cotar AI, Elena F, Dinu S, Necula A, Bîrlu V, Ceianu CS, *et al.* West Nile virus lineage 2 in Romania , 2015 – 2016: co-circulation and strain replacement. 2018;1–5.
91. Busquets N, Laranjo-González M, Soler M, Nicolás O, Rivas R, Talavera S, *et al.* Detection of West Nile virus lineage 2 in North-Eastern Spain (Catalonia). *Transbound Emerg Dis.* 2019;66(2):617–21.
92. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: Review of the literature. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2013;310(3):308–15.
93. Gossner CM, Marrama L, Carson M, Allerberger F, Calistri P, Dilaveris D, *et al.* West Nile virus surveillance in Europe: Moving towards an integrated animal-human-vector approach. *Eurosurveillance.* 2017;22(18):1–10.
94. Zannoli, Sambri. West Nile Virus and Usutu Virus Co-Circulation in Europe: Epidemiology and Implications. *Microorganisms.* 2019;7(7):184.
95. García-Bocanegra I, Jaén-Téllez JA, Napp S, Arenas-Montes A, Fernández-Morente M, Fernández-Molera V, *et al.* West Nile fever outbreak in horses and humans, Spain, 2010. *Emerging Infectious Diseases.* 2011(17):2397–9.
96. Vázquez A, Sánchez-Seco MP, Ruiz S, Molero F, Hernández L, Moreno J, *et al.* Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(3):549–52.
97. López-Ruiz N, Montaño-Remacha M del C, Durán-Pla E, Pérez-Ruiz M, Navarro-Marí JM, Salamanca-Rivera C, *et al.* West Nile virus outbreak in humans and epidemiological surveillance, west Andalusia, Spain, 2016. *Eurosurveillance.* 2018;23(14):17–00261.
98. European centre for disease prevention and control. Epidemiological update: West Nile virus transmission season in Europe, 2018 En: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2018>. Acceso el 17, octubre, 2019.
99. Figuerola J, Soriguer R, Rojo G, Tejedor CG, Jimenez-Clavero MA. Seroconversion in wild birds and local circulation of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(12):1915–7.
100. Ciota AT. West Nile virus and its vectors. *Curr Opin Insect Sci.* 2017;22:28–36.

101. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis.* 2012;2(9):519–29.
102. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, *et al.* Transmission of West Nile Virus through Blood Transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med.* 2003;349(13):1236–45.
103. Nett RJ, Kuehnert MJ, Ison MG, Orłowski JP, Fischer M, Staples JE. Current practices and evaluation of screening solid organ donors for West Nile virus. *Transpl Infect Dis.* 2012;14(3):268–77.
104. Paisley JE, Hansman C, Boyd E, Hinckley AF, Rasmussen SA, Pape WJ, *et al.* West Nile Virus Infection Among Pregnant Women in a Northern Colorado Community, 2003 to 2004. *Pediatrics.* 2006;117(3):814–20.
105. Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, Kamel HT, Norris PJ, Walsh I, *et al.* Virus and Antibody Dynamics in Acute West Nile Virus Infection. *J Infect Dis.* 2008;198(7):984–93.
106. Nagy A, Bán E, Nagy O, Ferenczi E, Farkas Á, Bányai K, *et al.* Detection and sequencing of West Nile virus RNA from human urine and serum samples during the 2014 seasonal period. *Arch Virol.* 2016;161(7):1797–806.
107. Lustig Y, Mannasse B, Koren R, Katz-likvornik S, Hindiyeh M, Mandelboim M, *et al.* Superiority of West Nile Virus RNA Detection in Whole Blood for. 2016;54(9):2294–7.
108. García-Bocanegra I, Belkhiria J, Napp S, Cano-Terriza D, Jiménez-Ruiz S, Martínez-López B. Epidemiology and spatio-temporal analysis of West Nile virus in horses in Spain between 2010 and 2016. *Transbound Emerg Dis.* 2018;65(2):567–77.
109. Fernandez-Garcia MD, Bangert M, de Ory F, Potente A, Hernandez L, Lasala F, *et al.* Chikungunya virus infections among travellers returning to Spain, 2008 to 2014. *Eurosurveillance.* 2016;21(36):30336.
110. Díaz-Menéndez M, de la Calle-Prieto F, Montero D, Antolín E, Vazquez A, Arsuaga M, *et al.* Initial experience with imported Zika virus infection in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(1):4–8.
111. Toro C, Trevisi P, López-Quintana B, Amor A, Iglesias N, Subirats M, *et al.* Imported Dengue Infection in a Spanish Hospital with a High Proportion of Travelers from Africa: A 9-Year Retrospective Study. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;96(3):701–7.
112. Collantes F, Delacour S, Alarcón-Elbal PM, Ruiz-Arrondo I, Delgado JA, Torrell-Sorio A, *et al.* Review of ten-years presence of *Aedes albopictus* in Spain 2004–2014: known distribution and public health concerns. *Parasit Vectors.* 2015;8(1):655.