



DIRECCIÓN
GENERAL DE SALUD
PÚBLICA, CALIDAD E
INNOVACIÓN

**Centro de Coordinación de
Alertas y Emergencias
Sanitarias**

INFORME DE SITUACIÓN Y EVALUACIÓN DEL RIESGO
DE LA
FIEBRE por VIRUS del NILO OCCIDENTAL
EN ESPAÑA

Octubre de 2017

Documento elaborado por:

Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias sanitarias (CCAES)

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

Fecha del informe: octubre de 2017

Este informe fue elaborado en abril de 2013 por:

Amaya Sánchez¹, Carmen Amela, Sara Santos¹, Berta Suárez, María José Sierra y Fernando Simón.

Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES).

Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación (DGSPCI).

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

¹Técnico Superior de apoyo, contratada por Tragsatec a través de encomienda del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

Ha sido actualizado por:

Rocío Palmera Suárez¹, María José Sierra, Sonia Fernández Balbuena¹, Lucía García San Miguel¹, Berta Suárez, y Fernando Simón.

Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (CCAES).

Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación.

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

¹Técnico Superior de apoyo, contratada por Tragsatec a través de encomienda del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

Han colaborado en la elaboración y actualización de este documento los siguientes expertos:

Jordi Figuerola

Estación Biológica de Doñana, Sevilla. Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Ministerio de Economía y Competitividad.

CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP)

Javier Lucientes, Rosa Estrada y Sarah Delacour

Departamento de Patología Animal (Sanidad Animal).

Facultad de Veterinaria.

Universidad de Zaragoza.

José María Mayoral

Servicio de Epidemiología.

Consejería de Salud de la Junta de Andalucía.

Ricardo Molina

Unidad de Entomología Médica, Servicio de Parasitología.

Centro Nacional de Microbiología.

Instituto de Salud Carlos III.

Ministerio de Economía y Competitividad.

Luis Romero

Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad.

Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.

Santiago Ruiz

Servicio de Control de Mosquitos.

Diputación Provincial de Huelva.

CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP)

Antonio Tenorio y Mari Paz Sánchez-Seco

Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Víricas Importadas.

Centro Nacional de Microbiología.

Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad.

Elena Moro y Magdalena Pérez

Área de Hemoterapia. Subdirección de Promoción de Salud y Epidemiología. DGSPCI.

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
JUSTIFICACIÓN	5
A. IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD.....	6
1. EL VIRUS	6
2. CICLO BIOLÓGICO Y RESERVORIO.....	8
3. EL VECTOR	9
4. LA ENFERMEDAD EN HUMANOS	11
5. EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL.....	12
5.1. SITUACIÓN MUNDIAL.....	12
5.2. SITUACIÓN EN ESPAÑA	19
B. EVALUACIÓN DEL RIESGO PARA ESPAÑA	22
1. FACTORES CONDICIONANTES DE LA PROBABILIDAD DE TRANSMISIÓN	22
1.1. PRESENCIA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS VECTORES.....	22
1.2. PRESENCIA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS RESERVORIOS	26
1.3. CIRCULACIÓN VIRAL	31
1.4. FACTORES AMBIENTALES.....	35
1.5. RESUMEN DE FACTORES CONDICIONANTES Y RIESGO DE TRANSMISIÓN.....	37
2. IMPACTO	39
3. CONCLUSIONES	40
4. RECOMENDACIONES.....	42
Anexo 1. Ficha técnica del Virus del Nilo Occidental.....	43
REFERENCIAS	44

RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la fiebre por virus del Nilo Occidental (VNO) es una enfermedad emergente en Europa, donde fue descrita en los años 50. Durante los últimos veinte años ha venido registrando un incremento en el número de brotes y desde el año 2010, se ha producido una importante expansión de las áreas afectadas así como un drástico aumento en el número de casos humanos notificados. En septiembre de 2010 se produjo en España un brote de VNO en equinos y humanos en una zona del sur de la Península, que puso de manifiesto la circulación del virus en esa área.

La mayoría de las infecciones por VNO son asintomáticas. La manifestación más grave de la infección es la afectación del sistema nervioso central, que aparece en menos del 1% de los casos. El virus causante, el virus del Nilo Occidental (VNO), es transmitido por mosquitos cuyo reservorio principal son las aves. Los hombres y otros mamíferos, como los caballos, son hospedadores accidentales. La vía de infección más frecuente es la picadura por un mosquito infectado. Los mosquitos del género *Culex* son los principales vectores del VNO. En España las condiciones ecológicas y climáticas son favorables para la circulación del VNO, debido a la amplia distribución de los mosquitos vectores, los largos periodos del año con elevadas temperaturas que permiten su proliferación y la posibilidad de contacto con posibles reservorios, existiendo zonas de especial interés como son los humedales, donde cohabitan aves locales con aves migratorias procedentes de áreas donde el VNO es endémico.

Entre los años 2010 y 2016 se han venido notificando focos de VNO en diversas explotaciones equinas de las provincias occidentales de Andalucía (Sevilla, Cádiz, Huelva, Málaga y Córdoba), la provincia de Ciudad Real en Castilla-La Mancha, las provincias de Badajoz y Cáceres en Extremadura y la provincia de Ávila en Castilla y León. Un sistema de vigilancia activa en aves ha permitido la identificación de algunas especies positivas para VNO en el entorno del Parque Nacional de Doñana, el delta del Ebro y las provincias de Toledo, Ciudad Real y Ávila. En este mismo periodo de tiempo se han registrado cinco casos humanos de enfermedad neuroinvasiva por VNO: dos en 2010 y tres en 2016, todos ellos en áreas con focos equinos confirmados para VNO.

La detección de focos a lo largo de varios años indica la existencia de una circulación viral establecida en la región suroeste del país, mantenida en un ciclo enzootico entre las aves como hospedadores y los mosquitos como vectores, con afectación esporádica de equinos, centrada fundamentalmente en zonas rurales cercanas a humedales y con abundantes poblaciones de aves. El escenario futuro más plausible es el del mantenimiento de la circulación del VNO en áreas donde se ha demostrado en años anteriores, con una posible extensión geográfica a áreas en las que se dan las condiciones ecológicas favorables. En este escenario, no puede descartarse la aparición de casos humanos de enfermedad neuroinvasora si bien se daría probablemente de forma esporádica y limitada espacial y temporalmente.

Se recomienda que se aborde de forma integral y multidisciplinar la vigilancia y control de la circulación del VNO en España, reforzando la coordinación a nivel local, autonómico y nacional entre los sectores de salud humana, animal y ambiental. Es necesario continuar y reforzar la vigilancia epidemiológica de la fiebre por virus del Nilo Occidental en humanos implementada desde el año 2010 y continuar con la difusión de la información tanto a profesionales sanitarios como a la población en áreas en las que exista circulación viral. Así mismo, es importante el refuerzo de la vigilancia desde la sanidad animal, especialmente en équidos, para poder establecer con mayor precisión las áreas de circulación del virus en nuestro país. Esta coordinación debe reflejarse y enmarcarse en el Plan Nacional de Preparación y Respuesta frente a enfermedades transmitidas por vectores en que se incluya a todos los actores implicados.

JUSTIFICACIÓN

La fiebre por virus del Nilo Occidental (VNO) es una enfermedad producida por el flavivirus del mismo nombre que se mantiene en la naturaleza por un ciclo enzoótico ave-mosquito-ave. Los humanos y otros mamíferos, como los caballos, son hospedadores accidentales. Desde su primera identificación en 1937 en el distrito de West Nile de Uganda, el VNO se ha extendido rápidamente. Los primeros casos en Europa se describen a partir de los años 50 y desde entonces se han notificado ocasionalmente casos y brotes esporádicos en humanos, la mayor parte de ellos en áreas rurales, aunque también se han descrito brotes en zonas urbanas (p.ej: Bucarest 1996/1997). La mayor parte de las infecciones en humanos son asintomáticas o leves, al igual que en los caballos, en los que causa una mortalidad más variable (aproximadamente un tercio de los que se infectan mueren). En aves, dependiendo de la especie y el linaje de virus, puede generar una elevada mortalidad especialmente en cuervos y gansos. En los últimos 20 años han aumentado los casos y brotes en humanos y équidos en las regiones templadas de Europa y América del Norte, convirtiéndose en un problema de salud pública. En América, desde la introducción de la enfermedad en EEUU en el año 1999, el VNO ha causado una importante mortalidad en aves silvestres y ha sido responsable de un gran número de brotes y casos humanos en EEUU y Canadá.

En Europa, desde el año 2010 se han incrementado los casos humanos de VNO, con una expansión de las áreas geográficas afectadas y una presentación de casos claramente estacional entre los meses de julio y noviembre, con algunos casos esporádicos en los meses de diciembre y enero. En los últimos cinco años se ha observado una incidencia variable de VNO en la UE y sus países vecinos. Los años 2012 y 2013 fueron los periodos con el mayor número de casos humanos notificados (937 y 785 respectivamente) y en la temporada 2016 se registraron un total de 481 casos. Los países vecinos de la Unión Europea (UE) son las regiones más afectadas por esta enfermedad en los últimos años siendo Rusia, Serbia e Israel, los territorios con el mayor número de casos confirmados. Grecia, Italia, Rumanía y Hungría, son los países de la UE con la mayor incidencia, aunque con diferencias en su evolución; en Grecia y Hungría se ha registrado una importante reducción desde el año 2010 y países como Italia y Rumanía han experimentado un incremento sustancial de casos y áreas de riesgo. En Grecia, Italia, Rumanía y Rusia, se identificó en 2013, el linaje tipo 2 del virus en humanos, el cual se añadió al linaje tipo 1 que había circulado tradicionalmente en Europa.

En **España**, en el año 2016 se produjo un importante aumento en la detección de VNO en explotaciones equinas. El Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) notificó más de 70 focos en explotaciones equinas de Andalucía, Extremadura y Castilla-León. De manera simultánea, la vigilancia activa de meningoencefalitis en humanos en Francia y España, permitió la identificación de tres casos humanos de encefalitis por VNO en personas que visitaron y/o residían en alguna de estas zonas afectadas. Dada la situación en los países de nuestro entorno y la persistencia y expansión de la circulación del VNO en el área del suroeste del país, se ha considerado importante realizar una actualización de la evaluación del riesgo del VNO para España.

A. IMPORTANCIA DE LA ENFERMEDAD

1. EL VIRUS

El virus del Nilo Occidental (VNO) es un virus ARN perteneciente al género *Flavivirus*, que incluye otros virus como el del Zika, la fiebre amarilla, el dengue, la encefalitis japonesa o la encefalitis de San Luis. Se identificó por primera vez en 1937 en el distrito de West Nile de Uganda. Es un arbovirus zoonótico, lo que implica que se transmite al hombre desde su reservorio animal (las aves) mediante artrópodos, en este caso, mosquitos, principalmente del género *Culex* [1]. En el ser humano, la vía de infección más frecuente es la picadura por un mosquito infectado, si bien se han descrito otros mecanismos de transmisión: transfusión o trasplante, vía transplacentaria, por lactancia materna y por exposición accidental [2].

La re-emergencia de la enfermedad en Europa y sus países vecinos después de 1990 intensificó la vigilancia de la infección en humanos, caballos, aves y mosquitos. A raíz de esto en el año 2002 se describieron dos linajes del virus con una divergencia genética de un 30% [3], y años posteriores, se aislaron otras cepas diferentes clasificadas según algunos autores en hasta nueve linajes genéticos distintos, con una divergencia genética entre un 20 y un 25% [4,5]

No obstante, los linajes de VNO más ampliamente extendidos y que son capaces de causar enfermedad humana o animal hasta el momento siguen siendo el **linaje 1, subtipo 1a** (subtipo Mediterráneo y de la antigua Europa del este), y el **linaje 2**. El **linaje 1**, ampliamente distribuido en Europa, África, Oriente Próximo, India, Australia y América, es similar a los virus aislados en Kenia, Rumania y Senegal, lo que pone de manifiesto la movilidad geográfica del virus a través de las aves migratorias [6]. El virus aislado en Nueva York en 1999 estaba estrechamente relacionado con cepas de **linaje 1** que circularon en Israel un año antes [3,7].

El **linaje 2**, que se encontraba restringido en África Subsahariana y Madagascar, se detectó en Europa central en el año 2004, propagándose desde Hungría, donde se identificó en aves de la especie Azor europea (2004) y otras rapaces (2005) [8], a la parte oriental de Austria y los países del sur de Europa. Siguiendo una introducción independiente, otra cepa de **linaje 2** fue detectada en el 2004 en la región de Rostov al sur de Rusia. Esta cepa también se detectó en dos pacientes con enfermedad por VNO en Rusia, lo que supuso la primera evidencia de casos clínicos causados por VNO linaje 2 fuera de África. De forma subsecuente esta cepa viral ha sido responsable de brotes en Volgogrado al sur de Rusia en 2007 y Rumania en 2010 [5,9]. Otros países de Europa en los que se ha identificado el VNO linaje 2 son Austria (en 2008 en halcones salvajes y en un ave cautiva [10], Grecia (durante un importante brote de VNO en humanos en 2010) [11], Rumanía (en un brote en humanos también en 2010 [12]) e Italia (en un paciente con infección por VNO en el año 2011 [13]).

Tras los brotes causados por el virus de linaje 2 en Grecia y Rusia en el año 2010, se determinó que el linaje 1 y 2 tienen similares características de patogenicidad en los humanos [10]. Los análisis filogenéticos indican que todas las cepas Europeas del VNO linajes 1 y 2 se derivan de un número limitado de introducciones independientes procedentes de África, que luego tuvieron una propagación local y evolucionaron [8,14-18]. Otros linajes han sido identificados aunque no se asocian con enfermedad en humanos o animales. Entre ellos se incluye el **linaje 3**, conocido como un virus Rabensburg, aislado en 1997, a partir de mosquitos *Culex pipiens* y *Aedes rossicus* en la República Checa (Moravia sur) [19]. Un **linaje 4** denominado virus Krasnodar y detectado por primera vez en una garrapata *Dermacentor* y luego en mosquitos y ranas del sur de Rusia [20]. Un **linaje 6/7 también denominado 4b**, identificado en el 2010 en mosquitos *Culex pipiens* detectados en el sur de España (Palos de la Frontera) durante el año 2006 [21], y un **linaje 4c (también llamado linaje 9)** descubierto en mosquitos *Uranotaenia unguiculata* en Austria en el 2013 [22].

El análisis de la secuencia genómica completa del virus ha mostrado que a pesar de su estabilidad genética, puede adaptarse a nuevos nichos ecológicos a través de eventos de mutación y selección [23]. La presencia de otros flavivirus infectando mosquitos, aves y humanos, podría tener importantes consecuencias, no solamente en su ecología, epidemiología y patogenia, sino también para su diagnóstico, vigilancia y estrategias de control [24].

En EEUU la vasta expansión geográfica del virus en el año 2002 se asoció a la sustitución de la cepa NY99 por la WN02. Este genotipo del VNO, que se considera ahora el dominante en EEUU, se transmite de manera más eficiente por los mosquitos *Culex*, especialmente a temperaturas elevadas [25,26].

2. CICLO BIOLÓGICO Y RESERVORIO

El virus se mantiene en la naturaleza gracias a las aves que actúan como reservorio y son el hospedador principal del virus [27]. La transmisión del virus entre las aves requiere de la picadura de un mosquito infectado, aunque otras vías de transmisión incluida la oral han sido demostradas experimentalmente [28,29].

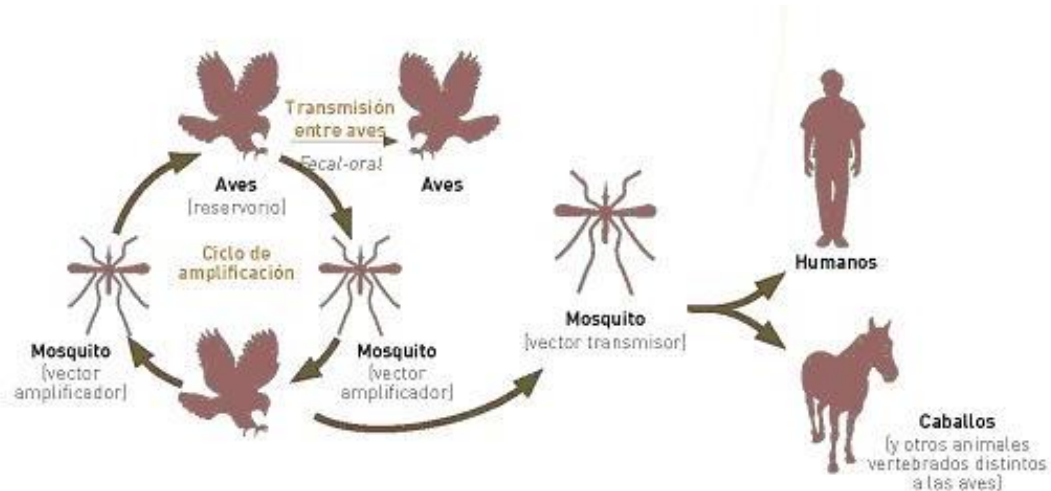
En Norteamérica, la propagación del VNO ha tenido importantes consecuencias, causando la muerte de millones de aves desde 1999 [30]; sin embargo en Europa, las aves rara vez desarrollan síntomas y la mortalidad aviar sólo se registra de manera esporádica entre las aves silvestres [31]. No obstante, recientes cambios en la epidemiología del virus sugieren un incremento de su virulencia [32]. En Europa, hay descritas más de 40 especies diferentes de aves en las que se han detectado anticuerpos frente al virus, aunque no todas ellas son buenos reservorios ya que en algunas especies el virus no se replica lo suficiente.

El ciclo se amplifica por la constante transmisión entre el mosquito y el ave. Una o más especies de aves podrían estar involucradas en esta cadena de amplificación, algunas responsables del mantenimiento del ciclo selvático y otras (que podrían no ser las mismas) de los ciclos urbanos y periurbanos de la enfermedad [5]. Las aves migratorias en sus desplazamientos estacionales desde áreas enzoóticas contribuyen a la diseminación del virus. En infecciones experimentales en aves de Norteamérica se ha visto que éstas presentan una viremia de aproximadamente de 7 días tras la picadura de un mosquito infectado [27]. Las aves desarrollan inmunidad de por vida y en ellas la infección es generalmente asintomática, aunque, como se ha señalado, algunos brotes se han caracterizado por una elevada mortalidad entre ciertas especies de aves no migratorias [33].

En EEUU, se ha reconocido el papel de distintas aves residentes como huéspedes amplificadores. El primer brote de Nueva York pudo haberse amplificado a través de gorriones y ocasionó la muerte de un importante número de cuervos. Al extenderse por nuevas áreas geográficas de EEUU, el VNO ha encontrado nuevos reservorios altamente competentes, como el *Arrendajo azul* y el *Zorzal robin* [25]. Esta última especie parece ser especialmente importante en la amplificación del virus, debido a la preferencia de los mosquitos vectores dominantes de alimentarse de estas aves (en el 30-80% de las alimentaciones) y a la abundancia de las mismas, cuya población se ha incrementado en un 50-100% en los últimos 25 años, debido entre otros factores a la urbanización en Norteamérica [34].

Los mamíferos, principalmente el hombre y el caballo, son hospedadores accidentales. En ellos la viremia es insuficiente para contribuir al ciclo biológico, actuando como fondo de saco epidemiológico (Figura 1). En estas dos especies, la infección rara vez causa enfermedad clínica, pero en ocasiones y dependiendo de factores tales como condiciones climáticas, densidad vectorial y niveles de inmunidad en la población local, puede ocasionar brotes con un impacto en la salud humana y animal [35]. El VNO, una vez establecido, circula en ciclos enzoóticos entre unas pocas especies de mosquitos competentes y los vertebrados sobre los que se alimentan [36-38].

Figura 1. Ciclo de transmisión del VNO



Fuente: Adaptado de Blitvich 2008

3. EL VECTOR

Prácticamente todas las especies de mosquitos que se alimenten de sangre de aves y de mamíferos podrían estar implicadas en la transmisión del VNO, pero sólo aquellas más abundantes, ampliamente repartidas y con preferencias ornitófilas, serán las responsables de la diseminación del virus.

Se han identificado hasta 40 especies de mosquitos ornitófilas capaces de actuar como vectores, pero investigaciones llevadas a cabo tanto en América como en Europa señalan a los mosquitos del género *Culex* como los principales implicados en la transmisión del VNO, aunque también otros mosquitos de los géneros *Aedes* o *Mansonia* son vectores competentes.

En Europa, principalmente en la zona Mediterránea, los vectores más frecuentemente identificados son los mosquitos *Culex pipiens* y *Culex modestus* [39]. *Culex perexiguus* también podría ser importante para la transmisión del VNO en España [40]. De forma excepcional, en las zonas áridas de África y el sur de Rusia, las garrapatas de cuerpo blando *Argasidae* se han relacionado con su transmisión, y también se ha demostrado la presencia del virus en dípteros del género *Culicoides* [41].

Al ser las aves los principales hospedadores vertebrados donde se multiplica el virus, son las especies de mosquitos ornitófilas las implicadas en la transmisión y mantenimiento del ciclo enzoótico [40]. Los mamíferos parecen no tener un papel importante como reservorio del virus dado que la concentración del virus en su sangre no es suficientemente elevada para infectar al mosquito, por lo tanto las especies de mosquitos mamófilas estrictas no tendrían mucho interés en la transmisión y diseminación de la enfermedad.

Especial interés tienen las especies de mosquitos zoófilas que se alimentan tanto de aves como de mamíferos, estos vectores puente serían los responsables de la transmisión de la enfermedad de las aves al hombre y a los équidos. Los estudios realizados en el suroeste de España sobre patrones de alimentación de mosquitos señalan a *Culex perexiguus* como la responsable de la amplificación del virus entre aves y su transmisión a caballos y a *Culex pipiens* como la principal especie responsable de la transmisión del virus desde aves a humanos [40].

Los mosquitos implicados en la transmisión pertenecen a la orden *Diptera* y a la familia *Culicidae*. Son insectos pequeños y los adultos voladores miden entre 0,8 y 1,8 cm de longitud por lo que son fácilmente visibles. Tienen un ciclo evolutivo complejo con cuatro fases larvianas y una de pupa que se desarrollan dentro del agua, mientras que los mosquitos adultos son insectos aéreos voladores. Los hábitats que ocupan pueden ser muy variados dependiendo de la especie de mosquitos; en general, son aguas permanentes estancadas o ligeramente corrientes, pero también se encuentran en praderas o marismas que se inundan periódicamente por lluvias o crecidas de los ríos. La duración del ciclo depende de la especie del mosquito y sobre todo de la temperatura del agua donde se desarrolla, pudiendo durar desde meses hasta menos de una semana en pleno verano [41,42].

La transmisión se produce por la picadura de las hembras. En éstas, el virus se multiplica en las glándula salivales permaneciendo infectivas durante toda su vida [43]. En algunas especies de mosquitos *Culex* se ha documentado transmisión vertical transovárica [44], es decir las hembras infectadas pueden pasar el virus a su descendencia a través de los huevos. Cuando éstos eclosionan, las larvas ya están infectadas pudiendo transmitir el virus en su primera ingestión de sangre una vez alcanzada su fase adulta. Esta podría ser una forma de mantenimiento del virus en ambientes naturales. Los machos sólo se alimentan de jugos vegetales azucarados, mientras que las hembras necesitan además hacer una ingestión de sangre para realizar la maduración de los ovocitos y la puesta de los huevos. A lo largo de su vida una hembra puede realizar hasta tres o cuatro puestas de huevos por lo que las hembras tienen que estar alimentándose de sangre periódicamente, de aquí el papel tan importante que tienen en la transmisión de enfermedades [41,44].

Los mosquitos adultos durante las horas diurnas se encuentran ocultos entre la vegetación espesa, en madrigueras o dentro de las construcciones. Aunque pueden picar durante el día prefieren hacerlo a partir de la puesta del sol para evitar desecarse y morir.

La temperatura es un factor que limita la presencia y abundancia de estos insectos. Al ser animales de sangre fría su actividad y metabolismo están directamente relacionados con la temperatura del ambiente donde se encuentran. La temperatura por debajo de 0°C los mata en pocos días; hasta 10°C entran en un estado de hibernación y permanecen vivos pero sin entrar en actividad (diapausa). A partir de estas temperaturas pueden detectarse volando y las temperaturas óptimas son las comprendidas entre 25 y 35°C [41,45-47], siendo el periodo estival el de mayor riesgo para la transmisión de la enfermedad.

Algunos estudios en Norteamérica han sugerido que, tras un periodo a comienzos del verano (mayo-junio) en el que prevalece el ciclo mosquito-ave-mosquito que permitiría la amplificación del VNO, la incidencia de picaduras a mamíferos podría incrementarse cuando disminuyen las poblaciones de aves, lo que explicaría la mayor intensidad de las epidemias de VNO a finales del verano-comienzos del otoño [48]. Así por ejemplo, se ha documentado un incremento en la alimentación de los *Culex pipiens* a partir de humanos de julio hasta octubre, coincidente con la disminución de la población de aves de la especie *Turdus migratorius* (*Zorzal robin*) el huésped preferido de los *Culex pipiens* en muchas zonas de Norteamérica, debido a los movimientos dispersivos de estas aves tras su periodo de cría. Esta situación también se ha observado en relación a la dispersión y disminución de la población de aves paseriformes migrantes [48].

Los adultos de la mayoría de las especies mueren en invierno permaneciendo sólo en estado de huevos o larva, pero hay algunas especies de los géneros *Culex* y *Anopheles*, que son las hembras adultas fecundadas las que sobreviven la época invernal ocultas entre la vegetación, dentro de madrigueras o en construcciones donde las temperaturas no lleguen a alcanzar temperatura por debajo de 0°C [41,49].

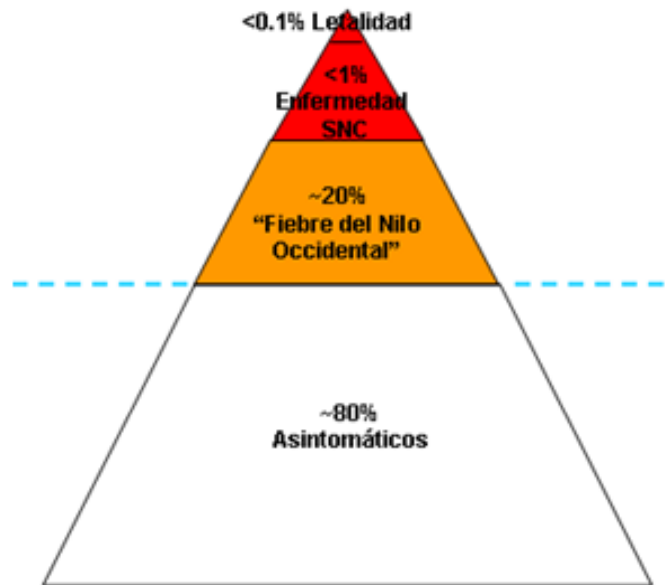
Esta facilidad para pasar el invierno vivas hace que cuando las temperaturas aumentan entren en actividad y puedan alimentarse incluso durante el invierno.

4. LA ENFERMEDAD EN HUMANOS

La mayoría de las infecciones por el VNO en los seres humanos son asintomáticas; sólo entre un 20% y un 40% desarrollan infección clínica [5], y ésta se asocia con síntomas similares a la gripe; no obstante, en unos pocos casos (<1%) la infección se manifiesta como enfermedad neuroinvasiva [35]. El periodo de incubación es de 3-15 días, aunque puede extenderse hasta 21 días. La gran mayoría de las manifestaciones clínicas son leves y el cuadro clínico más habitual es un síndrome pseudogripal con síntomas inespecíficos como fiebre, mialgia, fatiga, malestar general, náuseas y vómitos. Puede aparecer exantema maculopapular. La enfermedad dura entre 2 y 5 días [50,51]. La máxima viremia aparece a los 4-8 días post infección y es de corta duración. La recuperación suele ser completa y la infección confiere inmunidad duradera.

La enfermedad neuroinvasiva engloba tres síndromes: meningitis (35-40% de los cuadros de enfermedad neuroinvasiva), encefalitis (55-60%) y parálisis flácida aguda (5-10%) [50]. Entre los factores de riesgo para el desarrollo de estos cuadros se encuentran la edad avanzada y la historia de trasplante de órgano sólido (debido a la inmunosupresión asociada); podrían también incluirse otras patologías que producen inmunocompromiso, la diabetes y la hipertensión [52]. Se han descrito también, aunque con muy poca frecuencia, cuadros fulminantes de miocarditis, pancreatitis y hepatitis [51].

Figura 2. Infección por virus del Nilo Occidental en humanos



Fuente: Elaboración propia

5. EPIDEMIOLOGÍA DEL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL

5.1. SITUACIÓN MUNDIAL

La infección por VNO es endozoótica en África, Asia central y occidental, Oriente Próximo y Australia. Una característica de la epidemiología del VNO durante el periodo entre 1937 y 1999 fue que las epidemias ocurrían sólo ocasionalmente y la infección en humanos, caballos y aves era generalmente asintomática o leve [53].

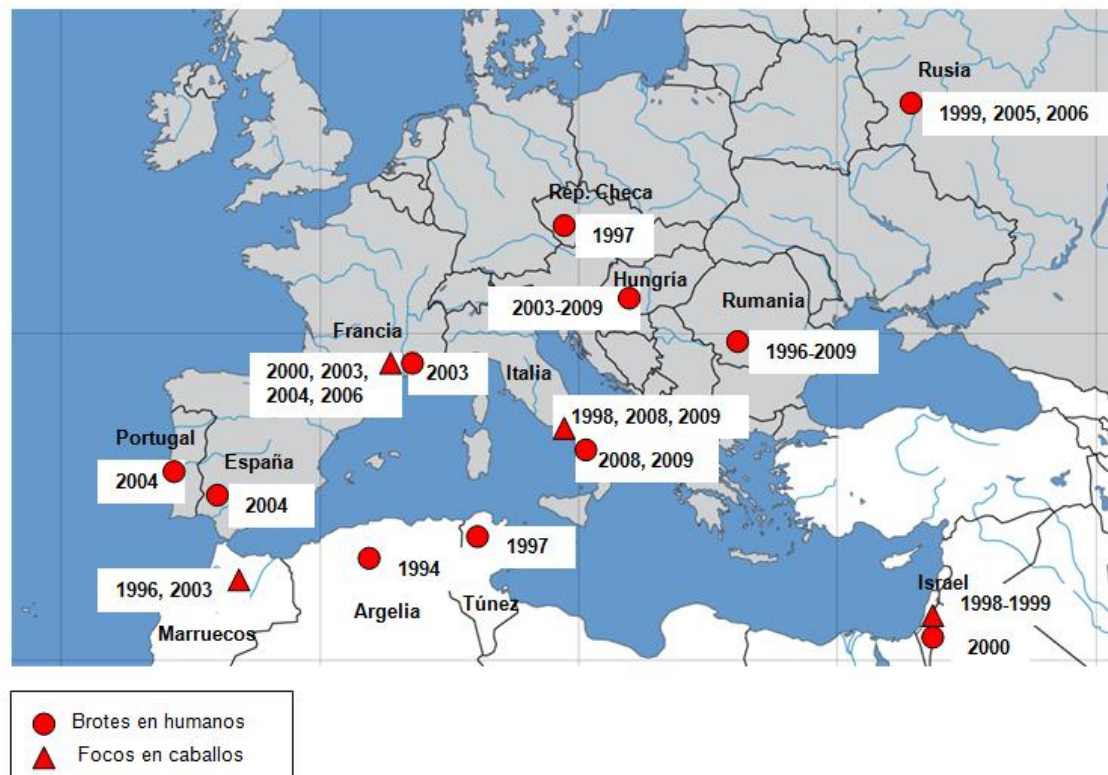
Situación en Europa previa a 2010

En **Europa**, el primer brote reconocido tuvo lugar en Francia, en la región de la Camarga, en el verano de 1962, causando casos de encefalitis en equinos y en humanos [54]. Previamente, en 1951 se había producido en Israel la primera epidemia reconocida por VNO en la región Mediterránea, con un total de 123 casos en una pequeña población de 303 habitantes [55], y también se identificaron casos humanos en 1957. Entre 1951 y 1954 se produjeron varios brotes en Egipto y se realizaron estudios serológicos en humanos, mamíferos y aves así como estudios ecológicos y experimentales que mejoraron el conocimiento de la infección por VNO [56,57].

A partir de 1996 se notificaron brotes en humanos y equinos especialmente en la cuenca mediterránea y otros países cercanos (figura 3). En el año 1996 en Rumanía tuvo lugar el primer brote significativo y detectado en un entorno urbano. De julio a octubre, se produjeron 393 casos confirmados por laboratorio de infección por VNO, la mayoría en Bucarest, y más de 800 hospitalizaciones por complicaciones neurológicas consideradas como casos probables. Se observó una alta letalidad en mayores de 50 años. La prevalencia de anticuerpos frente a VNO en aves domésticas alcanzó el 41% [58].

Se registraron focos de VNO en caballos, no asociados a casos humanos sintomáticos, en Italia en 1998 (14 casos) [59] y en la región de la Camarga, Francia, en el año 2000 (76 casos con 21 muertes en caballos) [60]. En esta misma región francesa se produjo en el año 2003 otro brote en el que, además de casos en equinos, se confirmaron 4 casos humanos con enfermedad neuroinvasiva por VNO [54]. Durante el mes de julio del año 2004 se detectaron 2 casos en turistas expuestos a picaduras de mosquitos en la región del Algarve, Portugal [61]. En Hungría, desde 2003 hasta 2007 se diagnosticaron una media de 6 casos de enfermedad neuroinvasiva por VNO en humanos, mientras que en el año 2008 el número ascendió a 14 casos [62]. En ese último año se identificaron también 2 casos en Rumanía y 6 casos en Italia [63]. En el año 2009 se notificaron 28 casos confirmados de VNO en humanos (18 en Italia, 7 en Hungría, 2 en Rumanía) [64].

Figura 3. Brotes de VNO en humanos y caballos, Europa y región Mediterránea, 1994-2009



Fuente: Elaboración propia

Situación en Europa posterior a 2010

En el año 2010, se produjo una importante expansión de las áreas afectadas con casos humanos de infección por VNO en Europa y los países vecinos, así como un drástico aumento en el número de casos confirmados de enfermedad neuroinvasiva y no neuroinvasiva, que ascendió a 342 (40 fallecidos) en los países de la Unión Europea [64] causando varios brotes en Turquía y Rusia. Esta situación se mantuvo hasta el año 2012 [65] y 2013, períodos en los que se registró la mayor incidencia de casos, siendo Grecia, en la UE, y Rusia, en los países vecinos, los territorios más afectados. La incidencia anual por países y el mapa con la distribución de casos se recogen en la Tabla 1 y Figura 4.

En Grecia se observó además una importante extensión geográfica de los casos que afectó la región de Macedonia Central en el 2010, Macedonia Central y las prefecturas del sur en 2011 [66], nuevas prefecturas del suroeste del país y nuevas áreas de prefecturas ya afectadas en el año 2012 [67], y nueve de las 51 prefecturas en el año 2013.

En Rusia, los casos se localizaron inicialmente en las provincias del sur (Volgogrado, Astracán y Rostov) y posteriormente se desplazaron hacia las provincias del norte, lo que algunos autores atribuyen a cambios climáticos y ambientales [68]

En el año 2014 se observó una disminución de los casos humanos y de las áreas afectadas. Se registraron 74 casos en la UE distribuidos entre Italia, Rumanía, Grecia y Hungría, y 136 casos en los países vecinos. Durante el año 2015, los casos humanos se incrementaron nuevamente (122 en la UE y 193 en los países vecinos) alcanzando valores similares al año 2011; este aumento fue especialmente importante en Italia e Israel.

En el año 2016 aumentaron los casos humanos registrándose un total de 481 casos de enfermedad neuroinvasiva y no neuroinvasiva, 214 en países de la UE y 267 en países

vecinos. Se observa también un aumento de los países afectados, con presencia de casos en países con baja incidencia en los años previos. Grecia, Italia y Rumania en la UE, y Rusia, Serbia e Israel, en los países vecinos, son por este orden los territorios con el mayor número de casos humanos de VNO desde el año 2010.

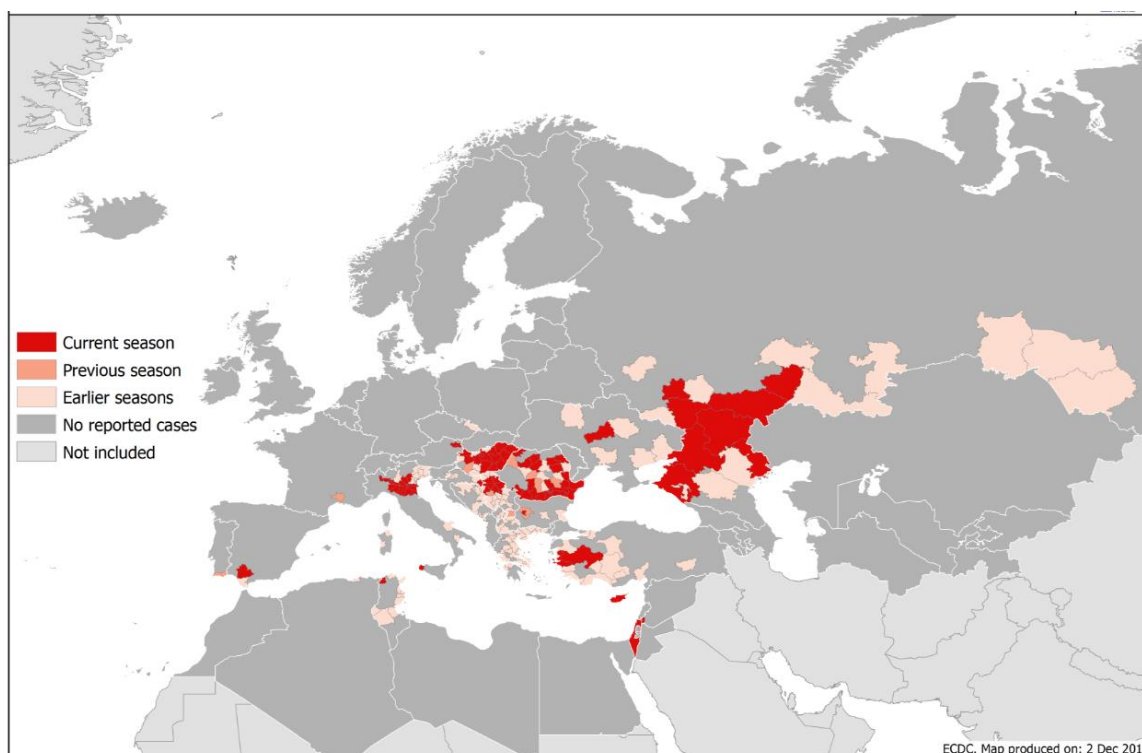
Tabla 1. Número de casos de VNO en humanos en Europa, 2010-2016

Países de la UE	Número de casos de VNO en humanos							
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Austria	0	0	0	0	1	7	5	13
Bulgaria	0	0	2	0	0	2	2	6
Chipre	0	0	0	0	0	0	1	1
Croacia	0	0	5	16	0	0	1	22
República Checa	0	0	0	1	0	0	0	1
Francia	0	0	0	0	0	1	0	1
Grecia	262	100	161	86	15	0	0	624
Hungría	18	3	17	31	11	18	44	142
Italia	3	14	50	69	24	61	76	297
Portugal	0	0	0	0	0	1	0	1
Rumania	57	11	14	24	23	32	93	254
España	2	0	0	0	0	0	3	5
Total casos UE	342	128	249	227	74	122	225	1142
Países vecinos de la UE	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Albania	sd	2	0	0	0	0	0	2
Argelia	0	0	1	0	0	0	0	1
Bosnia y Herzegovina	0	0	0	3	13	0	0	16
Yugoeslavia	0	4	6	1	0	0	0	11
Israel	sd	39	83	63	17	125	84	411
Kosovo	0	0	4	0	0	0	0	4
Montenegro	0	0	1	4	0	0	0	5
Palestina	0	0	2	0	1	1	0	4
Rusia	sd	153	447	177	29	39	135	980
Serbia	0	0	69	302	76	28	41	516
Siria	0	0	0	0	0	0	2	2
Eslovenia	0	0	0	1	0	0	0	1
Túnez	sd	3	63	6	0	0	1	73
Turquía	sd	3	0	0	0	0	2	5
Egipto	sd	0	0	0	0	0	1	1
Ucrania	sd	8	12	1	0	0	1	22
Total casos países vecinos	sd	212	688	558	136	193	267	2054

sd: sin dato

Fuente: Informes ECDC. Elaboración propia

Figura 4. Distribución de los casos de VNO en la Unión Europea y países vecinos. Temporada de transmisión 2016 y previas



Fuente: ECDC

Desde el año 2015 el ECDC recoge información sobre casos asintomáticos detectados a partir de donantes de sangre. Dicho año, se identificaron 15 casos en Italia y dos en Austria. En 2016, Italia notificó 22 casos y Austria uno. La información disponible puede verse en el siguiente enlace:

<https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/table-transmission-west-nile-fever-may-november-2016-table-cases-2016>

Situación en el Norte de África

En el **norte de África** ya a mediados de los años 90 se produjeron epidemias de VNO con casos clínicos de encefalitis (Argelia 1994 [69] y Túnez 1997 [70]). En Marruecos se han producido focos de VNO en caballos en los años 1996, 2003 y 2010, en las provincias de Kenitra, Larache y Benslimane [71]. En este país se notificó un caso de enfermedad humana en 1996. En 2008 se identificó VNO en aves locales y en una encuesta serológica realizada en humanos en 2011 se encontraron seroprevalencias de anticuerpos neutralizantes frente al VNO en porcentajes que oscilaron entre 4,7% en Meknes y 18,8% en Kenitra [72]. En el año 2012 se notificaron 63 casos en Túnez y 1 en Argelia [67].

Una reciente revisión publicada en 2016 sobre VNO en la región de África noroccidental en la que se analizaron series de casos de meningoencefalitis por VNO y estudios serológicos en humanos, équidos y otras especies, determinaron que la enfermedad es endémica en Marruecos, Túnez y Argelia y que la presencia del virus en esta región es resultado de su introducción a través de aves migratorias y su posterior endemización, consecuencia de los ciclos de hibernación en aves y mosquitos locales [73].

Situación en América

En **Norteamérica**, la primera aparición del virus del Nilo Occidental se produjo de forma inesperada a finales de agosto de 1999, en Nueva York, ocasionando un brote humano y

equino de encefalitis causado por una cepa similar a la identificada el año anterior en aves en Israel. Este brote se caracterizó por una alta mortalidad en aves y su persistencia en los meses de invierno. En total, se registraron 62 casos humanos, 59 de ellos con meningoencefalitis y 7 fallecidos [53]. El virus se extendió rápidamente por EEUU. Entre 1999 y 2001, a pesar de la importante expansión geográfica del virus a los estados del centro-este del país, la incidencia promedio nacional de la enfermedad se mantuvo baja, con 66 casos notificados en humanos en 2001 [53]. En los años 2002-2003 la incidencia de enfermedad neuroinvasiva se elevó a 1,02 y 0,99 por 100.000 habitantes, al producirse las mayores epidemias de VNO en EEUU, con 4.156 casos notificados en 40 estados (2.946 de enfermedad neuroinvasiva y 287 muertes) en 2002 y 9.862 casos en 46 estados (2.866 de enfermedad neuroinvasiva y 264 muertes) en 2003 [52].

Entre los años 2004 y 2007 los casos se mantuvieron estables, registrándose una media de 3.300 casos anuales y una incidencia anual de enfermedad neuroinvasiva entre 0,4 – 0,5 por 100.000 habitantes; esta situación representa un nivel de transmisión endémica de la enfermedad en el país, siendo California, Colorado y Texas los estados más afectados [52]. Entre 2008 y 2011 los casos de VNO disminuyeron de manera importante, con una media anual cercana a 1000 y una incidencia de enfermedad neuroinvasiva entre 0,1 y 0,2 por 100.000 habitantes, que se localizaron principalmente en el estado de California [74].

En el año 2012, vuelve a registrarse un incremento de casos con cifras cercanas a lo observado durante los años 2002 y 2003; un total de 5.387 casos de VNO se notificaron en 48 estados, incluyendo 243 muertes; de ellos el 51% (2.734) se clasificaron como enfermedad neuroinvasiva, con una incidencia anual de 1 por 100.000 habitantes, siendo Texas el estado más afectado con una tercera parte de los casos notificados. En el año 2013 los casos descendieron y esta tendencia se mantuvo durante los años 2014 y 2015 [74]. Durante el año 2016 se notificaron 1.938 casos humanos de VNO; 1.069 (55%) fueron clasificados como enfermedad neuroinvasiva y 869 (45%) como enfermedad no neuroinvasiva (Figura 5).

Así, de forma general, la incidencia de casos de VNO en USA ha sido variable año a año y no se observa una tendencia clara en la incidencia. La enfermedad está ocurriendo en 48 estados contiguos, registrándose una incidencia anual media más alta en el suroeste del país, el delta del Misisipi, las grandes llanuras y la región de las montañas Rocosas [74].

Por otro lado, como parte del sistema de vigilancia, en EEUU durante el año 2003 se inició a nivel nacional el análisis para VNO de la sangre donada. Este programa, que analiza la sangre de más de 12 millones de donaciones al año ha identificado 1.395 donantes, presuntamente virémicos entre los años 2013 y 2016 [75], tiene un coste estimado de 10 millones de dólares y ha sido sujeto a diversos estudios de coste-efectividad [76,77].

En México, el virus se detectó por primera vez en caballos en julio de 2002 [83,84]; la infección en aves silvestres en 2003 [85,86] y casos humanos en 2004 [87]. Simultáneamente se observó actividad en El Salvador (equinos), Guatemala (equinos), Belice (equinos), Cuba (aves), Puerto Rico (aves) y Bahamas (humanos) [79,88,89]. Posteriormente se detectaron equinos infectados en Cuba y Puerto Rico, pero solo se detectaron casos de enfermedad neurológica en humanos en La Habana en 2003 [90].

En otoño de 2004, se detectaron ocho caballos y dos patos domésticos seropositivos en Trinidad [79], y 12 equinos infectados en el norte de Colombia [91], convirtiéndose en los primeros registros de actividad del virus en América del Sur. En Venezuela, un estudio de seroprevalencia identificó aves silvestres y gallinas seropositivas en 2006 y equinos infectados desde el año 2004 [92]. A finales de 2004, el virus había alcanzado Argentina [4]. En Brasil detectaron anticuerpos contra el virus en sueros de equinos recolectados en 2009 en la región del Pantanal, constituyendo el primer registro de actividad en ese país [93].

5.2. SITUACIÓN EN ESPAÑA

En **España**, el primer caso humano de enfermedad neuroinvasiva por VNO se identificó de forma retrospectiva por un equipo del Hospital de Bellvitge, Barcelona, en un paciente con diagnóstico de meningitis, que había estado los días previos al inicio de los síntomas (septiembre del 2004) en un pueblo de en la provincia de Badajoz [94].

Posteriormente, entre septiembre y diciembre de 2010, el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (hoy denominado Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente – MAPAMA) notificó la detección del VNO en 36 explotaciones equinas de las provincias de Cádiz, Sevilla y Málaga. El virus identificado en uno de los caballos sintomáticos correspondía al linaje 1. Estas detecciones se enmarcaron dentro del Plan de vigilancia frente al VNO en España, del MAPAMA, que se elaboró por primera vez en 2007 y se revisa anualmente [95]. Toda la información sobre el programa de vigilancia, así como los resultados en años anteriores está disponible en la siguiente página [95]:

http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/fiebre-nilo-occidental/F_O_Nilo.aspx

Tras la notificación de la sospecha del primer foco en caballos, se puso en marcha la vigilancia activa de meningoencefalitis en humanos en la zona afectada que incluyó una campaña de información a los profesionales sanitarios. Mediante esta vigilancia activa se investigaron 15 casos sospechosos y se confirmaron **dos casos humanos de meningoencefalitis por VNO**, dos hombres de 60 y 77 años de edad, ambos residentes en la zona afectada de Cádiz [96]. Se llevó a cabo además una búsqueda retrospectiva de casos de meningitis víricas en Jerez, donde se identificó el primer foco en caballos, sin que se encontraran casos compatibles en las 11 semanas previas a la identificación del foco. La población local de las zonas en riesgo fue informada para la adopción de medidas de protección individual frente a picaduras de mosquitos.

Durante este brote se tomaron medidas para garantizar la seguridad sanguínea. En todas las donaciones procedentes de las áreas afectadas se realizó cribado de VNO mediante técnicas de detección de ácidos nucleicos del virus (NAT), resultando todas negativas. Además, en las zonas no afectadas se estableció la exclusión temporal durante un periodo de 28 días de los donantes que hubieran permanecido en las áreas afectadas, según lo establecido en los acuerdos del sistema nacional de hemovigilancia en las recomendaciones para donantes de sangre y componentes.

Entre septiembre y octubre de 2011 se identificaron cinco focos de VNO en explotaciones equinas de la provincia de Cádiz. En 2012, se notificaron cuatro focos, uno en enero y tres entre octubre y noviembre, todos ellos en la provincia de Cádiz [97]. En 2013, los focos aumentaron a 35, la temporada se inició en agosto y los casos se registraron en municipios de las provincias de Sevilla y Huelva (figura 6).

Entre septiembre y noviembre de 2014 se identificaron ocho focos equinos, siete de ellos en las provincias de Sevilla, Huelva y Cádiz; este año se detectó por primera vez un foco en la provincia de Ciudad Real. En la temporada 2015 los focos aumentaron a 17, registrándose por primera vez un foco equino en la provincia de Badajoz (Don Benito); los otros focos se localizaron en las provincias de Sevilla, Huelva y Cádiz [97] (figura 6).

En el año 2016, el primer foco en equinos se detectó en el municipio de Tarifa (Cádiz). En agosto Francia informó a través del *Early Warning Response System* (EWRS) de un caso confirmado de enfermedad neuroinvasiva por VNO en un hombre de 74 años, que había regresado a Francia tras unas vacaciones en Andalucía, entre el 22 de junio y el 4 de agosto. Su evolución fue satisfactoria [97].

En agosto se notificaron 14 focos de VNO en la provincia de Sevilla. Durante el mes de septiembre los focos aumentaron a 27, ocho de ellos en municipios sin notificaciones desde

el 2010. Se detectó un foco Cáceres, el primero fuera de Andalucía en 2016 y el segundo de Extremadura desde el inicio de la vigilancia equina (figura 6).

Durante el mes de septiembre de 2016 se notificaron dos nuevos casos humanos de enfermedad neuroinvasiva por VNO en Sevilla en dos varones de 70 y 54 años. Ambos evolucionaron de forma favorable [97].

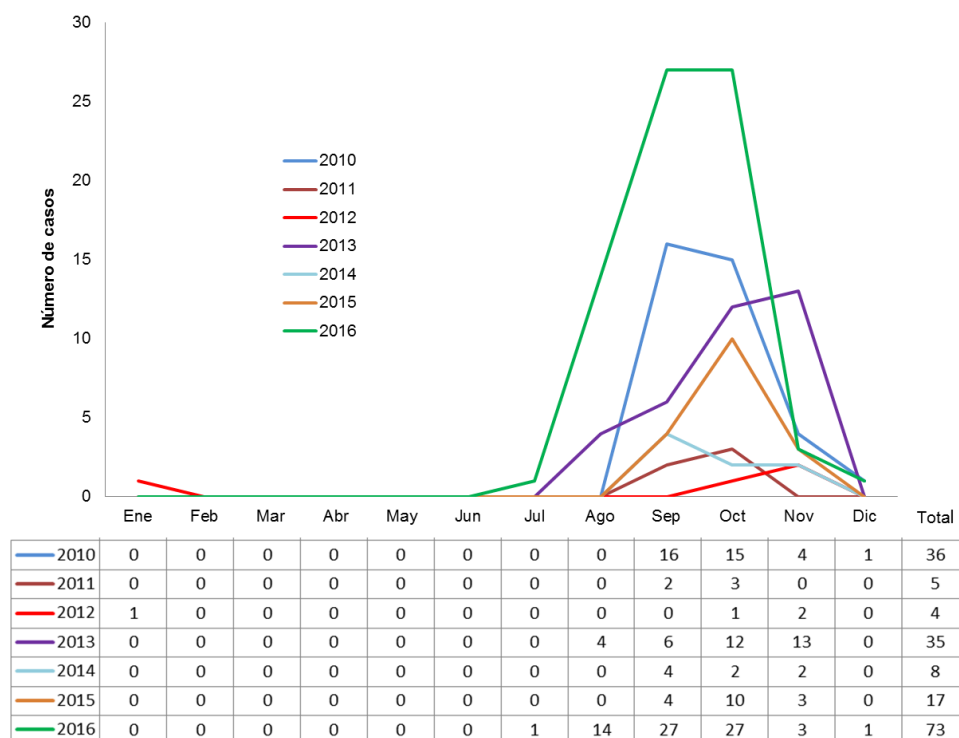
En octubre se detectaron 27 focos de los que siete se localizaron en Cáceres y Ávila. Los focos en esta última provincia fueron los primeros detectados desde el inicio de la vigilancia equina en 2010. En noviembre se detectaron los últimos tres focos de la temporada 2016 en la que se registraron 73 focos equinos de VNO en España, 37 de ellos en municipios sin focos notificados desde el inicio de la vigilancia equina en 2010 (figura 6).

En la figura 7 se muestra la distribución geográfica de los casos de VNO en caballos y humanos notificados entre 2010 y 2016.

La información de los municipios donde se han detectado los casos se puede encontrar en la Web del MAPAMA a través del buscador de focos [97]:

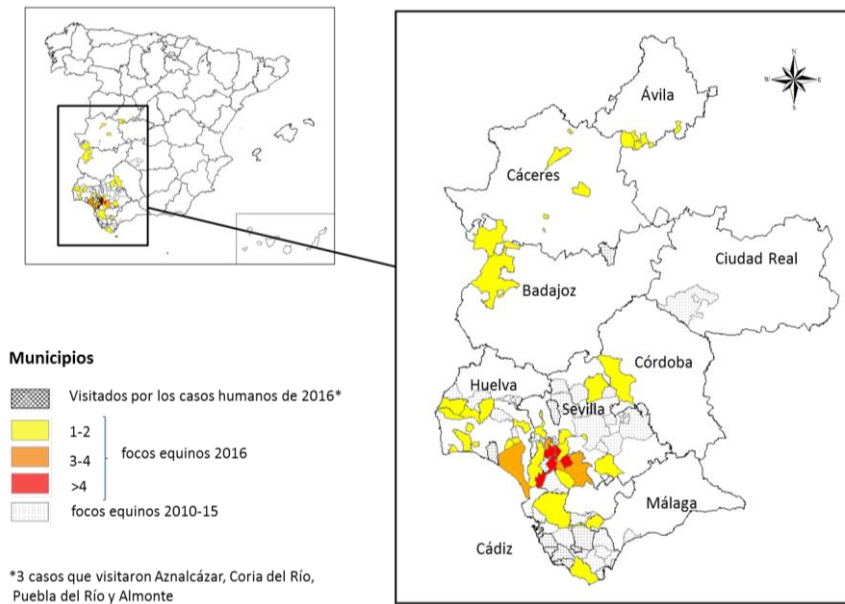
<https://servicio.magrama.gob.es/rasve/Publico/Publico/BuscadorFocos.aspx>

Figura 6. Focos equinos de VNO en España. 2010-2016



Fuente: Notificaciones Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Elaboración propia.

Figura 7. Casos humanos y focos equinos de VNO en España por municipios de ocurrencia entre los años 2010 y 2016



Fuente: Notificaciones Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente y Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Elaboración propia.

Seguridad transfusional

En España, existe un Comité Científico para la Seguridad Transfusional (CCST) que estudia de forma permanente las enfermedades infecciosas potencialmente transmisibles a través de la transfusión, las medidas encaminadas a su detección, así como la implantación de aquellas medidas que garantizan al máximo la seguridad de la sangre y derivados. Este comité viene estudiando desde el año 2003 el VNO, fecha en la que se estableció incluir en la **“Guía de criterios básicos para la selección de donantes de sangre y componentes”**, la *exclusión temporal del donante durante 28 días tras abandonar una zona en la que se estén produciendo casos de transmisión de VNO a humanos*. En el año 2016, la Orden SSI/795/2016 del 24 de mayo, actualizó las medidas establecidas para el VNO, en el siguiente sentido: *“Virus del Nilo Occidental: exclusión durante 28 días tras abandonar una zona en la que se detectan casos de transmisión a humanos, a menos que se realice una prueba individual de detección del VNO mediante tecnología de amplificación genómica del ácido nucleico –NAT– y su resultado sea negativo”*.

B. EVALUACIÓN DEL RIESGO PARA ESPAÑA

1. FACTORES CONDICIONANTES DE LA PROBABILIDAD DE TRANSMISIÓN

1.1. PRESENCIA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS VECTORES

En Europa, principalmente en la zona Mediterránea y en España además de *Culex pipiens* también han sido identificados el *Culex perexiguus* y *Culex modestus* como importantes vectores para la transmisión del VNO [39,40], mientras que el rol de otras especies, incluido el *Aedes albopictus* necesita ser mejor evaluada [5].

Como se ha descrito anteriormente, la detección del virus en los mosquitos no garantiza su capacidad vectorial ya que en algunas especies el VNO es incapaz de replicarse. La competencia vectorial para el VNO, es decir, la capacidad de transmisión del virus de un mosquito infectado a un huésped susceptible, de las especies de mosquitos presentes en España se describe en la tabla 2 y a continuación se detallan las características de los principales vectores implicados

Tabla 2. Clasificación según competencia vectorial para el VNO de diferentes especies de mosquitos presentes en España

Mosquitos con competencia vectorial alta	<i>Culex modestus</i> , <i>Culex perexiguus</i> (=univittatus) y <i>Culex theileri</i> .
Mosquitos con competencia vectorial media	<i>Culex pipiens</i> , <i>Aedes albopictus</i> .
Mosquitos con competencia vectorial débil	<i>Aedes vexans</i> , <i>Ochlerotatus caspius</i> y <i>Ochlerotatus sticticus</i> .

Fuente: Elaboración propia

La información disponible en relación con la distribución y abundancia de los mosquitos en España no es homogénea. Incluida Canarias, se han descrito un total de 64 especies diferentes de mosquitos en el país, 56 de ellas podrían estar relacionadas con la transmisión del VNO y 12 especies aparecen en la bibliografía como vectores activos del VNO en EEUU y algunos países de Europa [98,99] (tabla 3). Sin embargo en algunos casos estas especies se han identificado como vectores del VNO únicamente en EEUU, por lo que sería posible que en Europa no estuvieran implicadas en la transmisión del virus. Muchos de estos potenciales vectores están localizados en regiones muy restringidas o sus hábitats son muy específicos y su presencia es muy baja. Por ello las especies con mayor potencial vectorial quedan reducidas a aquéllas con elevada competencia vectorial, amplia distribución, que se presentan en elevadas densidades y pican preferentemente a las aves [41].

Tabla 3. Especies de mosquitos en las que se ha aislado el VNO y que están presentes en España.

Especie	País donde se ha aislado el VNO
<i>Anopheles atroparvus</i>	Portugal [100]
<i>Aedes vexans</i>	EEUU [101]
<i>Aedes albopictus</i>	EEUU [101]
<i>Culex modestus</i>	Francia [102], Rumania [103] y Rusia [104]
<i>Culex pipiens</i>	Portugal [105], República Checa [106], Israel [107], EEUU [101], Rumania [108], Italia [109] y España [21]
<i>Culex theileri</i>	Sudáfrica [110]
<i>Culex perexiguus (=univittatus)</i>	España [111], Portugal [105], Israel [112], Kenia [113], Egipto [114] y Sudáfrica [115]
<i>Culiseta morsitans</i>	EEUU [101]
<i>Coquilletidia richardii</i>	Rusia [116] y Rumania [108]
<i>Ochlerotatus cantans</i>	Eslovaquia [117]
<i>Ochlerotatus caspius</i>	Rusia [116], Rumania [108] e Israel [112]
<i>Ochlerotatus sticticus</i>	EEUU [101]

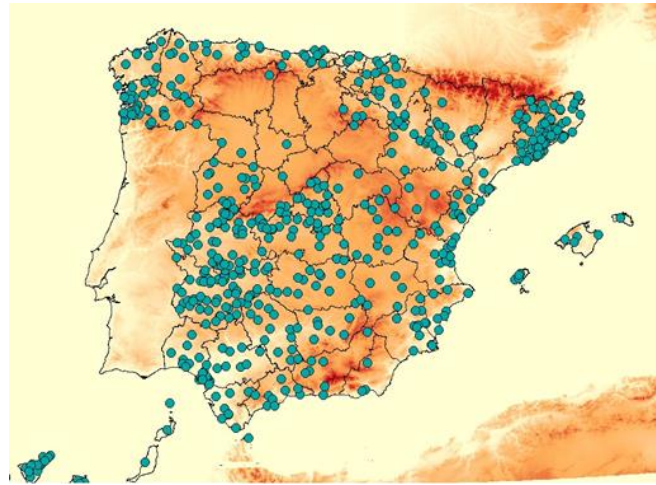
Fuente: Elaboración propia

En España, de estas especies, las cuatro pertenecientes al género *Culex* serían la principales responsables de la transmisión y mantenimiento del virus [118].

Culex pipiens puede considerarse el vector principal dada su amplia distribución y abundancia. En los sitios donde se han estudiado en profundidad las poblaciones de mosquitos (Gerona, Barcelona, Madrid, Salamanca y Huelva) esta especie se encuentra ampliamente distribuida, lo que nos lleva a pensar que ocurre lo mismo en las provincias donde no se ha estudiado con la misma intensidad. Ocupa todo tipo de hábitats, por lo que sería un buen vector no solo en zonas de hábitats naturales sino también en zonas con población humana. En zonas urbanizadas se ha adaptado a vivir incluso en aguas con altos niveles de contaminación. Es la única especie autóctona capaz de mantener importantes poblaciones en zonas urbanas [119]. Es una especie altamente ornitófila pero con carácter oportunista en cuanto a la alimentación [120], y debido a su facilidad para criar en ambientes antropógenos puede actuar como un vector puente que transmite el virus entre las aves y los seres humanos [121]. Al pasar el invierno en diapausa este mosquito podría estar implicado en el mantenimiento de un ciclo invernal de baja intensidad pero suficiente para mantener un ciclo endémico [49]. Se ha demostrado la transmisión vertical transovárica del VNO [44]. En ensayos experimentales realizados con *Cx. pipiens* del norte de África se ha demostrado que son vectores muy eficaces del VNO [122].

En la figura 8 se muestra la distribución de los mosquitos *Culex pipiens* en España, según lo descrito en la bibliografía.

Figura 8. Distribución en España de los mosquitos *Culex pipiens*



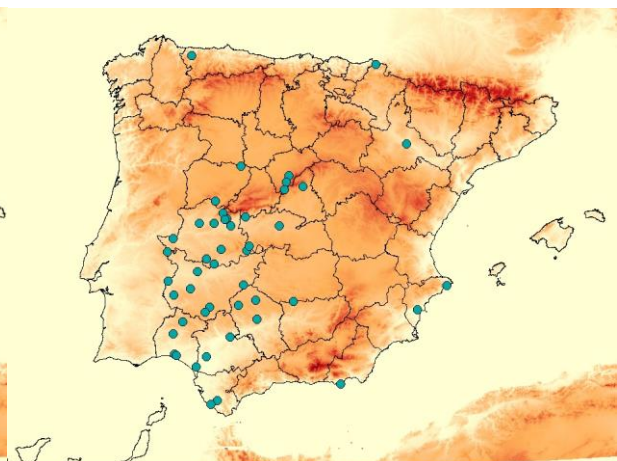
Elaboración propia: J. Lucientes, R. Estrada, S. Delacour

Las especies *Culex (subgénero Barraudius) modestus* y *Culex perexiguus* (= *univittatus*) aparecen como las mejor capacitadas para transmitir la enfermedad en ambientes naturales, pudiendo invadir las poblaciones que se encuentren en sus proximidades. Sin embargo, su distribución en España parece estar muy localizada en algunos enclaves del interior y en la costa mediterránea en el caso de *Culex modestus*, que tiene una clara preferencia por los humedales naturales. En la especie *Culex perexiguus*, que en el sur de España parece ser más abundante en arrozales, también se ha comprobado la transmisión vertical transovárica del VNO [113]. Ambas especies se alimentan mayoritariamente de aves y podrían ser muy importantes para el mantenimiento del ciclo enzoótico [40] y habitualmente no se encuentran en zonas urbanas [119] (Figuras 9 y 10).

Figura 9. Distribución en España de los mosquitos *Culex modestus*



Figura 10. Distribución en España de los mosquitos *Culex perexiguus*

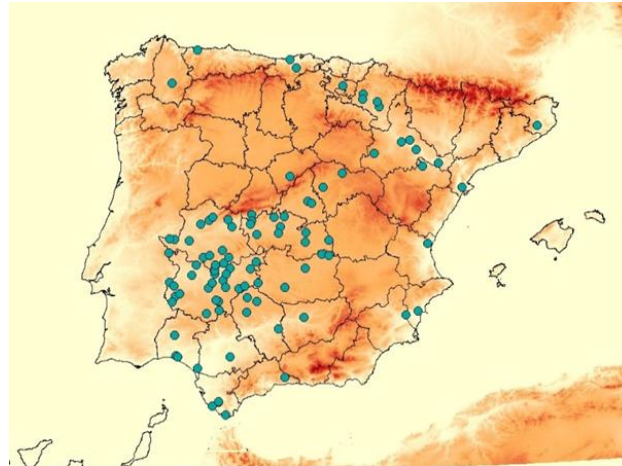


Elaboración propia: J. Lucientes, R. Estrada, S. Delacour

El *Culex theileri* es un vector que también es competente para el VNO y se encuentra ampliamente distribuido en España (Figura 11). Aunque ha demostrado ser muy efectivo para la transmisión de la enfermedad fuera de nuestras fronteras, no se ha detectado ningún

ejemplar positivo en los estudios realizados en el suroeste peninsular. Esta especie no sería tan importante para la amplificación del virus, ya que se alimenta mayoritariamente de mamíferos, pero podría jugar un papel muy importante, junto a *Culex pipiens*, en la transmisión del virus a caballos y humanos [40].

Figura 11. Distribución en España de los mosquitos *Culex theileri*



Elaboración propia: J. Lucientes, R. Estrada, S. Delacour

Otra especie a tener en cuenta es *Aedes albopictus*. En EEUU se ha aislado el VNO en esta especie [101] que ha demostrado tener una excelente capacidad vectorial en el laboratorio. Este mosquito, que fue detectado por primera vez en España en el año 2004, se encuentra en plena expansión en el país, sobre todo en la costa mediterránea, lugar de riesgo por ser una de las vías de migración de aves más importante. Datos recogidos en el “Proyecto de vigilancia entomológica en aeropuertos y puertos frente a vectores importados de enfermedades infecciosas exóticas, y vigilancia de potenciales vectores autóctonos de dichas enfermedades” y los facilitados por las CCAA en el marco del Plan Nacional de preparación y respuesta frente a enfermedades transmitidas por vectores hasta diciembre de 2016 [123-125], señalan que el vector está establecido en localidades de la costa mediterránea desde Gerona a Cádiz, incluyendo las islas de Mallorca, Menorca e Ibiza. También está presente en Irún. Hallazgos recientes procedentes del mismo proyecto indican también la presencia del vector en Bilbao y en Sevilla. Lo previsible es que el vector se siga expandiendo y se establezca en nuevos territorios en los próximos años.

Debido a su elevada atracción y agresividad hacia el ser humano, el *Aedes albopictus* podría actuar como un excelente vector puente en caso de una introducción del VNO por aves en un lugar habitado, aunque en estudios realizados en Barcelona, el impacto real sobre la amplificación de VNO se ha valorado como bajo debido a la escasa frecuencia de alimentación sobre aves [121].

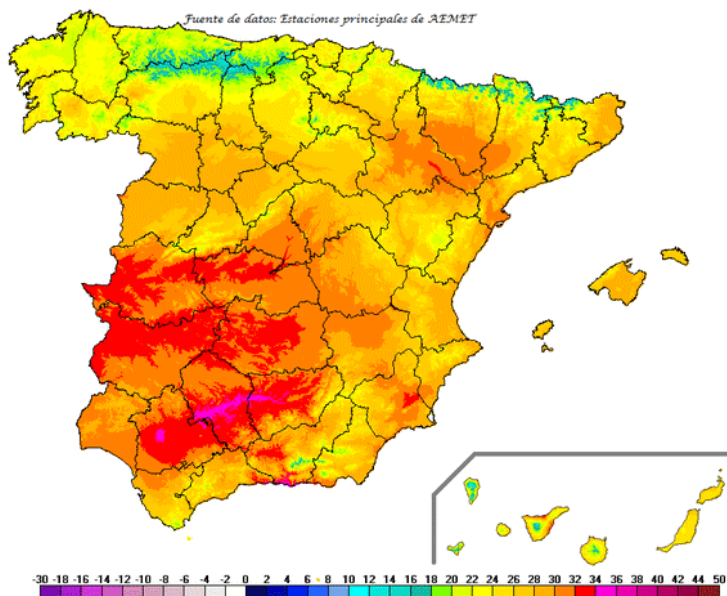
En un estudio publicado en 2012 se describían además nuevos flavivirus transmitidos por mosquitos detectados en *Ochlerotatus caspius* en Andalucía, aunque el papel de este vector en la transmisión del VNO no está definido [126].

Puesto que los principales vectores, las diversas especies del género *Culex*, hibernan en su forma adulta y está probada la transmisión transovárica, existe un riesgo elevado de mantenimiento del virus entre los mosquitos y las aves durante todo el año en condiciones naturales. Todo ello facilitaría la endemización en ciertos puntos de la geografía española.

Las otras especies tendrían una menor importancia en la transmisión del VNO, ya sea por estar más localizadas o por tener una menor capacidad vectorial, pudiendo actuar en ocasiones como vectores secundarios

Los mosquitos *Culex* son capaces de sobrevivir en el invierno a bajas temperaturas. En el bajo Guadalquivir se han encontrado hembras de *Culex pipiens*, *theileri* y *perexiguus* en todos los estadios gonotróficos desde noviembre a febrero. Sin embargo, el incremento de la temperatura produce un desarrollo más rápido del mosquito. La supervivencia es más elevada entre 20 y 30°C, mientras que las temperaturas extremas, demasiado elevadas o demasiado bajas, pueden resultar fatales para estos mosquitos [47]. En general, la transmisión del VNO mediante estos vectores no es posible en isotermas inferiores a 20°C en verano [46,127], por lo que, como se observa en la figura 12, en todo el país podría producirse transmisión, salvo en las zonas correspondientes a la Cordillera Cantábrica, los Montes de León, los Pirineos y algunas áreas del Sistema Central y del Sistema Ibérico en Burgos, Soria, Ávila, Segovia y Teruel.

Figura 12. Mapa de temperaturas medias de las máximas (°C) entre el 15 de junio y el 15 de julio en España. Período de referencia 1981-2010.



Fuente: Agencia Estatal de Meteorología. Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.

En cuanto a los mosquitos *Aedes albopictus*, las condiciones climáticas idóneas para su desarrollo y establecimiento son temperatura media anual superior a 11°C, con temperatura media del mes frío superior a 0°C y temperatura media del mes cálido superior a 20°C, junto con un número de días de lluvia al año superior a 60 días y más de 500 mm de precipitaciones anuales. En España las zonas climáticamente más favorables serían Galicia, toda la cornisa del Cantábrico, el delta del Ebro, la cuenca del Tajo, la cuenca del Guadiana y la desembocadura del Guadalquivir [127,128].

1.2. PRESENCIA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS RESERVORIOS

Las aves son los huéspedes naturales del VNO y actúan como reservorios amplificadores. En España, existe una gran variedad de especies de aves que serían susceptibles a la infección. En la tabla 4 se recoge un listado de aves presentes en España, ya sea como residentes o con presencia en determinadas temporadas en el caso de las migratorias, en

las que se han identificado anticuerpos frente al VNO en estudios realizados en varios países europeos o de África. Es importante aclarar que existen algunas especies de aves que tienen una distribución mundial y aunque no han sido encontradas enfermas o muertas de VNO en Europa, sí se han identificado en América, donde los brotes han sido mucho más patógenos para las aves y la vigilancia ha sido más exhaustiva. Tal es el caso de las especies *Tyto alba* y *Falco rusticolus* [29] y de las especies rapaces *Pandion haliaetus*, *Circus cyaneus*, *Falco columbarius*, *Falco peregrinus*, *Asio otus* y *Asio flammeus* [129].

La mayoría de las especies desarrollan síntomas muy leves, aunque presentan viremias alta y generan inmunidad para toda la vida. Sin embargo las especies de la familia *Corvidae* (cuervos, arrendajos y urracas) desarrollan enfermedad grave y presentan una alta mortalidad por VNO, lo cual puede hacer de ellas centinelas útiles para alertar de la presencia del virus en nuevas áreas de circulación viral [130].

Tabla 4. Aves en las que se han identificado anticuerpos frente al VNO en Europa, presentes en España

Orden	Familia	Especie	Nombre común	Estatus
Anseriformes	Anatidae	<i>Anas querquedula</i>	Cerceta carretona	MT
		<i>Anas platyrhynchos</i>	Ánade azulón	R, ME
		<i>Anas acuta</i>	Ánade rabudo	ME
		<i>Aythya ferina</i>	Porrón europeo	R, ME
		<i>Branta canadensis</i>	Barnacla canadiense grande	ME
Charadriformes	Charadriidae	<i>Vanellus vanellus</i>	Avefría europea	R, ME
	Laridae	<i>Chroicocephalus ridibundus</i>	Gaviota reidora	R, ME
		<i>Larus cachinnans</i>	Gaviota del Caspio	R, ME
	Scolopacidae	<i>Tringa ochropus</i>	Andarríos grande	R, ME
Sternidae	<i>Sternula albifrons</i>	Charrancito común	MT	
Ciconiformes	Ardeidae	<i>Ardea cinerea</i>	Garza real	R, ME
	Ciconiidae	<i>Ciconia ciconia</i>	Cigüeña blanca	R, ME, MT
Columbiformes	Columbidae	<i>Columba livia</i>	Paloma bravía	R
		<i>Streptopelia decaocto</i>	Tórtola turca	R
		<i>Streptopelia turtur</i>	Tórtola europea	MT
Coraciformes	Upupidae	<i>Upupa epops</i>	Abubilla	R, MT
Accipitriformes	Accipitridae	<i>Aquila crysaetos</i>	Águila real	R
		<i>Aquila adalberti</i>	Águila imperial Ibérica	R
		<i>Accipiter nisus</i>	Gavilán común	R, ME
		<i>Accipiter gentilis</i>	Azor común	R
		<i>Aquila fasciata</i>	Águila Azor perdicera	R
		<i>Falco tinnunculus</i>	Cernícalo vulgar	R
Galliformes	Phasianidae	<i>Phasianus colchicus</i>	Faisán vulgar	R
		<i>Alectoris rufa</i>	Perdiz Roja	R
Gruiformes	Rallidae	<i>Fulica cristata</i>	Focha común	R, ME
Paseriformes	Corvidae	<i>Pica pica</i>	Urraca común	R
		<i>Corvus cornix</i>	Corneja cenicienta	ME
		<i>Corvus corone</i>	Corneja negra	ME
	Hirundinidae	<i>Riparia riparia</i>	Avión zapador	MT
	Laniidae	<i>Lanius senator</i>	Alcaudón común	MT
	Motacillidae	<i>Motacilla alba</i>	Lavandera blanca	R, ME
		<i>Anthus trivialis</i>	Bisbita arbóreo	MT
	Muscicapidae	<i>Ficedula hypoleuca</i>	Papamoscas cerrojillo	MT
	Passeridae	<i>Passer domesticus</i>	Gorrión común	R
	Sturnidae	<i>Sturnus vulgaris</i>	Estornino pinto	R
	Sylviidae	<i>Sylvia communis</i>	Curruca zarcera	MT
		<i>Sylvia borin</i>	Curruca mosquitera	MT
		<i>Sylvia atricapilla</i>	Curruca capirotada	R, ME
		<i>Sylvia melanocephala</i>	Curruca cabecinegra	R
<i>Phylloscopus trochilus</i>		Mosquitero musical	MT	
Turdidae	<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	Colirrojo real	MT	
	<i>Turdus merula</i>	Mirlo común	R	
Pelecaniformes	Phalacrocoracidae	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Cormorán grande	R, ME
	Threskionithidae	<i>Plagadis falcinellus</i>	Morito común	R
	Ardeidae	<i>Egretta garzetta</i>	Garzeta común	R
Phoenicopteriformes	Phoenicopteridae	<i>Phoenicopterus roseus</i>	Flamenco común	R, MC
Piciformes	Picidae	<i>Jynx torquilla</i>	Torcecuello euroasiático	MT
Strigiformes	Strigidae	<i>Otus scops</i>	Autillo europeo	MT

MC: Migrante circunmediterráneo; ME: Migrante europeo; MT: Migrante transahariano; R: Residente.

Elaboración propia: J. Lucientes Fuentes: [8,29,131-140]

Las aves pueden contribuir a la diseminación del VNO a corta y a larga distancia. La hipótesis de la introducción del VNO desde África a Europa y la cuenca mediterránea a partir de aves migratorias se ha avalado por diversos estudios filogenéticos de las cepas circulantes [6]. El brote de VNO que ocurrió en el año 2000 en la región de la Camarga,

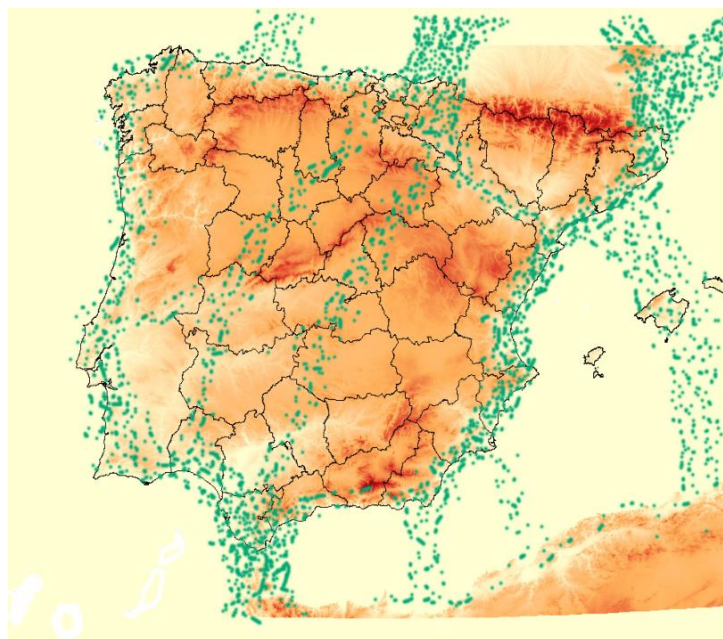
Francia, característica por sus humedales, y donde el virus no se había observado desde los años 1960, se ha asociado a una posible dispersión del virus a partir de aves migratorias procedentes de África subsahariana [141].

España se encuentra como etapa o destino de cría de muchas rutas migratorias de aves procedentes de áreas endémicas para el VNO, como el continente africano (Figura 13). Estas aves pasan el invierno en África y se reproducen en España, siendo su recuento máximo durante los meses estivales. La mayoría pertenece a la orden *Passeriformes*, un orden que incluye una gran variedad de especies de aves, algunas de las cuales se han descrito como reservorios del VNO (golondrinas, tordos) [142]. Otra ruta de aves migratorias procede del norte y centro de Europa donde se reproducen y a finales del verano comienzan su migración hacia latitudes más sureñas en busca de temperaturas más suaves. En España estas aves son fundamentalmente de hábitats acuáticos, las cuales se congregan en torno a humedales especialmente propicios para la existencia del mosquito vector del VNO y en los que coexisten aves residentes (Figura 14) [142]. Algunas zonas especialmente relevantes como punto de descanso, fundamentalmente de las aves migratorias acuáticas, son en la zona sur de España, el parque Nacional de Doñana, el Delta del Ebro, los humedales de Cataluña y los humedales de la cuenca mediterránea, situados en las CCAA de Valencia, Murcia y Baleares. Estas zonas han sido priorizadas en el Plan de vigilancia del VNO en España del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente [95].

Figura 13. Principales rutas de migración de aves entre Europa y África y en España

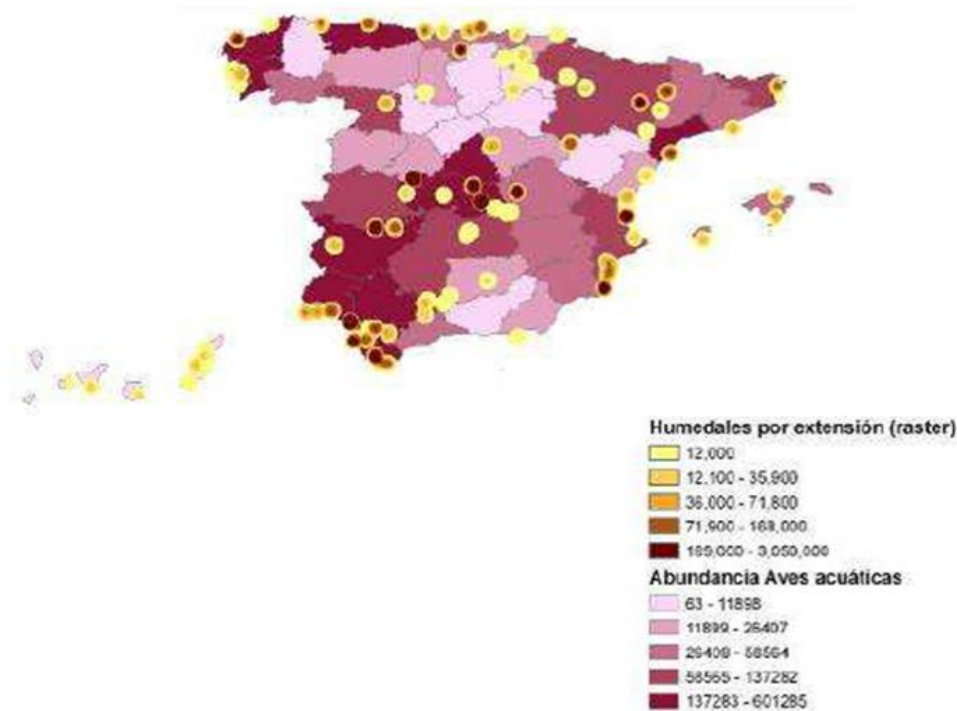


Fuente: Grupo Local de SEO/Birdlife en Barcelona



Elaboración propia: J. Lucientes

Figura 14. Abundancia de aves silvestres acuáticas y densidad de humedales, España



La extensión de humedales se representa mediante puntos, mientras que la abundancia de aves acuáticas se representa mediante el coloreado de las provincias.

Fuente: Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Análisis probabilístico del riesgo potencial de entrada y difusión de la Fiebre del Nilo Occidental y de la Peste Equina Africana en España [142]

Las aves residentes podrían contribuir al mantenimiento de la transmisión local del virus [69]. En España, algunos autores han descrito una seroprevalencia de anticuerpos frente al VNO en aves migratorias superior a la encontrada en aves residentes [143,144], aunque el VNO se ha identificado también en aves residentes, en especies como el mirlo común, el cernícalo, el águila imperial, el buitre negro, la cigüeña blanca y la focha (estas dos últimas especies se comportan como migradoras parciales) [135,136,145,146].

1.3. CIRCULACIÓN VIRAL

En España se han realizado varios estudios de seroprevalencia tanto en población humana, como en aves, caballos y mosquitos, que apoyan el hecho de que ha habido circulación del VNO en determinadas áreas y períodos. Los resultados describen de una manera global que la seroprevalencia en humanos oscila entre un 0,2% y un 3%, cuando se analiza la actividad neutralizante, entre un 7% y un 52% en los caballos y una gran variabilidad en las aves con porcentajes entre un 1,9% y un 43% dependiendo del tipo de especie estudiada.

En un estudio de 1037 muestras de suero humano pertenecientes a 10 localidades del Delta del Ebro recogidas en 1980, se encontró reactividad frente a flavivirus en el 8,0% de los casos y presencia de anticuerpos frente al VNO en títulos significativos en el 3,0% de los casos [147]. Estudios posteriores realizados con técnicas más específicas han encontrado seroprevalencias menores: en una encuesta serológica realizada en el año 2001 en 992 personas en el Delta del Ebro se encontraron anticuerpos IgG frente al VNO en el 1,2% de las muestras y actividad neutralizante en el 0,2% [148]; otro estudio realizado en el año 2007 en una muestra de 504 personas de la provincia de Sevilla encontró presencia de anticuerpos IgG frente al VNO en el 1,0% y confirmación de infección pasada mediante el test de microneutralización en el 0,6% [149]. En Cataluña un estudio de seroprevalencia en donantes de sangre realizado durante el año 2015, analizó 800 muestras y encontró más de 50 positivas por ELISA, pero sólo una con anticuerpos neutralizantes para VNO; esta muestra se obtuvo de un donante nativo de Pakistán [150].

En el área del parque Nacional de Doñana se han realizado hallazgos de anticuerpos frente al VNO en poblaciones equinas (8,3% de seroprevalencia en una muestra de 157 caballos en el año 2007) [151,152] y de aves, fundamentalmente en aves acuáticas migratorias, donde se han encontrado prevalencias de anticuerpos frente al VNO en polluelos que oscilan entre el 1,9% y el 17,9% según la especie, correspondiendo la mayor prevalencia a la población de flamencos [135]. Otros estudios realizados en el sur de España entre 2004 y 2009, fundamentalmente en áreas de Cádiz y Sevilla, han confirmado igualmente la circulación en aves del VNO y de otros miembros del complejo antigénico de la encefalitis japonesa. Los hallazgos muestran seroprevalencias variables en aves migratorias, que oscilan entre el 5,2% [144] y el 7,5% [143] en muestras constituidas por varias especies, hasta valores más elevados superiores al 40% en algunas subespecies, como la gaviota reidora [144]. Diversos estudios han encontrado las mayores seroprevalencias (20%-43%) en las fochas, migradoras parciales [144,146,153]. Un estudio realizado entre 2003 y 2006 confirmó la seroconversión para el VNO en fochas capturadas en Doñana [153]. En especies de aves residentes las seroprevalencias oscilan entre el 0,4% y el 3,7% dependiendo del área y la especie [143,145,146]. En un estudio de seroprevalencia de flavivirus en aves de caza realizado durante 2011 y 2012, se identificaron anticuerpos contra los virus VNO, Bagaza y Usutu en perdices y faisanes de la zona de Cádiz; la detección viral durante dos temporadas consecutivas apoya la premisa de que estos virus están hibernado en la zona [154].

En las Islas Canarias se estudió en el año 2006 la seroprevalencia de anticuerpos frente al VNO en halcones de Eleonora, aves migratorias que pasan el invierno en Madagascar. Se encontró una seroprevalencia de 14,8% en los adultos pero no se evidenciaron anticuerpos en ninguno de los polluelos, lo que sugería que el virus no estaba circulando localmente [155].

Por otro lado, en 2008 se identificó la presencia de anticuerpos frente al VNO en cinco ejemplares de águila imperial en Castilla La Mancha (seroprevalencia de 23,8%), una población de aves residentes en ambientes no húmedos del interior de la Península [136].

Se han realizado estudios en poblaciones de aves, desde el año 2001 hasta el 2006 en el marco de la red EVITAR (red de vigilancia de enfermedades víricas transmitidas por artrópodos y roedores) y posteriormente en el marco del Plan de vigilancia frente al VNO en

España, centrados en los humedales de Doñana-Marismas del Odiel y en los tres principales humedales catalanes (delta del Ebro, delta del Llobregat y Bahía de Rosas). En ellos se ha detectado la presencia de anticuerpos a flavivirus en proporciones variables según la especie, alcanzando en algunos casos valores elevados (34% de seroprevalencia en fochas en Doñana) [95].

Un estudio de seroprevalencia recientemente publicado y llevado a cabo en 149 aves de 32 especies capturadas entre julio y octubre de 2013 en las provincias de Huelva, Cádiz y Sevilla, confirmó la transmisión local de VNO en esta región, aportando más información sobre la dinámica de la transmisión [35]. Se encontraron anticuerpos VNO en una Curruca cabecinegra (*Sylvia melanocephala*) joven (nacida ese mismo año) y en un ave adulta (*Turdus merula*) en la que se identificó también virus Usutu. Durante este mismo periodo de tiempo, se notificaron varios brotes de VNO en explotaciones equinas de 34 municipios de la región (28 en Sevilla y 6 en Huelva). La *S. melanocephala* fue localizada a 27 km del lugar donde se declaró un foco positivo de VNO en caballos, en una zona con alta densidad equina. Esto indica que el virus estaba circulando en un área mayor que la sugerida por los casos equinos notificados y también resalta la importancia de la vigilancia de aves silvestres [35]. Este mismo año, un muestreo realizado en 1.588 gorriones de la región suroeste del país identificó una prevalencia de anticuerpos para VNO del 0,94% en aves de zonas naturales y del 1.15% en aves de zonas rurales (áreas con ganado), sin muestras positivas en gorriones procedentes de zonas urbanas [134].

En marzo del 2014 se detectó el VNO linaje 1 en un buitre que presentaba sintomatología neurológica, identificado en el municipio de Malagón, en la provincia de Ciudad Real (Castilla La Mancha) [140]. Un año más tarde, en febrero de 2015, el virus fue detectado en aves cautivas en la provincia de Ávila (Castilla y León). Al mismo tiempo, el MAPAMA informó de la detección por PCR de VNO en un faisán en el municipio de Arenas de San Pedro, en la provincia de Ávila. El faisán se encontraba en un núcleo zoológico de una finca particular, con presencia de aves y caballos, entre otros animales.

En Castilla y León existe un programa específico de vigilancia epidemiológica en la fauna silvestre, dentro del cual se incluye el VNO. El Programa consta de vigilancia pasiva en aves (recogida y análisis de cadáveres de aves) y vigilancia activa en aves y équidos [156]. En el año 2015, como parte de esta vigilancia activa se tomaron muestras de aves de este núcleo zoológico, encontrándose 15 muestras positivas por ELISA y 11 de ellas positivas por seroneutralización. Posteriormente se tomaron muestras de plumas de las aves positivas para la realización de PCR, y se detectó el VNO por PCR, linaje 1, en un faisán. Este caso podría indicar que el área de circulación del VNO en España podría estar extendiéndose hacia el centro del país.

Los caballos, al igual que los humanos, son susceptibles a la infección por VNO, y aunque actúan como fondo de saco epidemiológico, tienen gran valor como centinelas de la actividad vírica, puesto que están más expuestos a las picaduras de los vectores que los humanos e incluso podrían atraer a los mosquitos por los elevados volúmenes de CO₂ que excretan [157]. Los síntomas más frecuentes de encefalomielitis por VNO en caballos son ataxia, debilidad e incoordinación y la letalidad asociada oscila entre el 20 y el 30% [158].

En España hay 636.100 caballos en 187.546 explotaciones equinas. Andalucía es la región con mayor número de equinos con 219.198 animales en 74.232 explotaciones [159]. La densidad de caballos varía entre 1,1 y 3,5 caballos/km² en las provincias del este y oeste de la Comunidad Autónoma, respectivamente [160].

Existen estudios recientes de seroprevalencia de anticuerpos frente al VNO en poblaciones de équidos en Andalucía. En el año 2010, a partir de la identificación de un primer brote de VNO en una explotación de caballos en Cádiz a comienzos de septiembre, se implementó un sistema de vigilancia a partir del cual se encontró al menos un animal con presencia de anticuerpos IgM para VNO en 36 de las 75 explotaciones sospechosas (47,4%); de ellas, 30

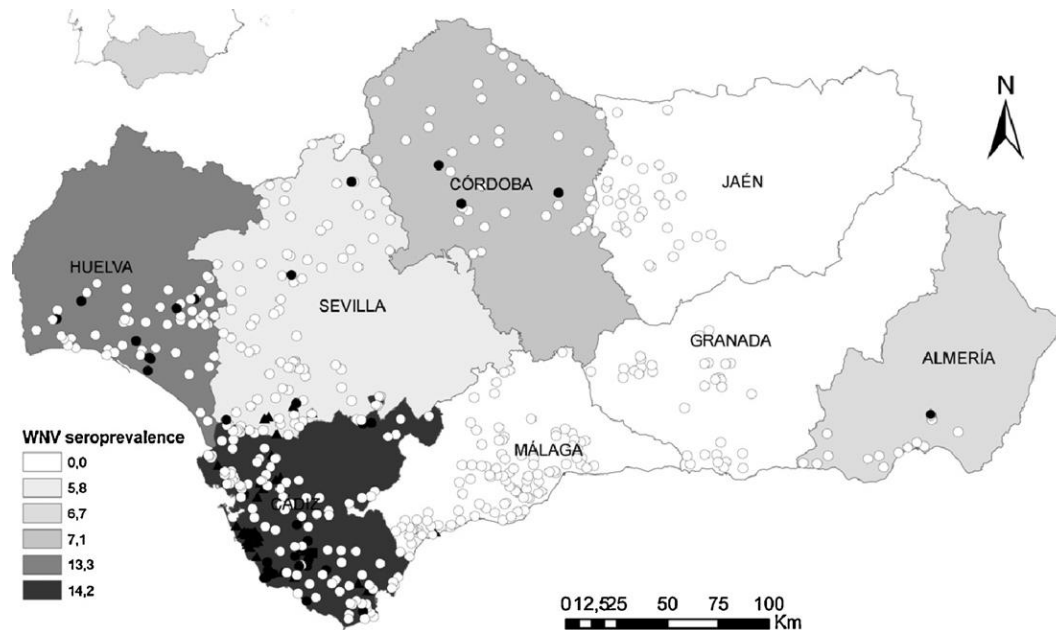
explotaciones estaban ubicadas en la provincia de Cádiz. La seroprevalencia en animales no vacunados en las explotaciones afectadas fue de 51.7%. En el brote de VNO en explotaciones equinas de Andalucía del año 2010, murieron 18 de los 51 caballos sintomáticos, con una letalidad del 35,3% [161].

En otro estudio de Andalucía realizado entre enero y marzo del 2010 en una muestra de 510 caballos de 348 explotaciones, se encontró una seroprevalencia individual de infección por VNO del 7,1% (IC95% 4,9-9,3) con un 8,3% de las explotaciones con algún animal seropositivo. Se encontraron importantes diferencias en la distribución geográfica de las explotaciones en las que se identificó infección por VNO, tal y como se observa en la figura 15, siendo Huelva y Cádiz las provincias con mayor seroprevalencia en caballos (13,3% y 14,2% respectivamente) [160]. Entre abril del 2010 y febrero del 2011 se realizó otra investigación en explotaciones de caballos donde no había habido casos sintomático; se encontró una seroprevalencia general del 11,0% indicativa de una mayor diseminación geográfica del virus y de que había existido circulación viral meses antes de que se notificara el primer brote en caballos. La mayor seroprevalencia se encontró también en Cádiz (18,6%) [18].

En un estudio de prevalencia realizado en 2012 en mamíferos salvajes: zorros (*Vulpes vulpes*), jabalíes (*Sus scrofa*) y cerdos ibéricos (*Sus scrofa* doméstica) de la zona centro y sur de España y del Parque Nacional de Doñana identificaron la presencia de anticuerpos contra el VNO en un zorro rojo (primera notificación de VNO en esta especie), cuatro cerdos ibéricos y nueve jabalíes. Estos resultados señalaron la posibilidad de circulación del virus en otras especies no relacionadas con los hábitats de humedales (jabalíes salvajes y zorros) que podrían servir como centinelas para la actividad de los flavivirus, aunque con importantes limitaciones dada su escasa exposición y su mayor concentración en la temporada de invierno [162].

Los resultados de un estudio publicado recientemente en el que se analizaron muestras serológicas de 369 caballos asintomáticos recogidas entre 2011 y 2013 en seis provincias centrales del país (Madrid, Toledo, Segovia, Guadalajara, Cuenca y Ávila), confirmaron la presencia de anticuerpos contra el VNO en dos caballos de la provincia de Madrid (mayo de 2012) y un caballo de la provincia de Segovia (julio de 2013),obteniéndose una seroprevalencia del 1,35%.Los autores concluyeron que el VNO circula en équidos asintomáticos de la zona central de la Península Ibérica al menos desde el año 2012 [163].

Figura 15. Distribución espacial de las explotaciones de caballos infectados por VNO en Andalucía, 2010.



Nota: El gradiente de blanco- negro indica la seroprevalencia frente a VNO en las diferentes áreas muestreadas. Los puntos negros y blancos representan las explotaciones seropositivas y seronegativas, respectivamente. Los triángulos y los cuadrados representan los brotes de VNO en caballos y humanos en 2010, respectivamente.

Fuente: I. García-Bocanegra et al. *Veterinary Microbiology* 160 (2012) 341-346.

En estudios realizados en mosquitos, se ha identificado genoma del VNO en *Culex pipiens* y *Culex perexiguus* en zonas del sur de la Península donde se había previamente detectado circulación viral (marismas de Doñana, Odiel y del Guadalquivir) [21,111].

Secuenciaciones del VNO Linaje 1 realizadas en aves (2007) y mosquitos (2008) presentaron una alta homogeneidad genómica (>99.5%), lo que sugiere que el virus ha podido estar invernando entre diferentes estaciones y años [18]. Recientemente ha sido identificado VNO linaje 1 en un *Azor común* que presentaba síntomas nerviosos (ataxia, inapetencia, convulsiones, etc.) en la provincia de Cádiz (Información suministrada por la Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente).

Los análisis filogenéticos del VNO identificado en águilas reales [137], en mosquitos y en un caballo afectado en el brote del 2010 en Andalucía [18,111] indican que **el virus circulante en España corresponde al linaje 1**.

El estudio de los patrones de circulación del VNO en Europa apunta a que el virus podría haber mantenido su circulación en algunas áreas del Mediterráneo occidental (incluyendo áreas de España) durante periodos de tiempo bastante largos. Análisis filogenéticos sugieren también que algunos brotes que se producen cada año en diversas áreas, muchas veces separadas geográficamente, serían el resultado de la introducción del virus a partir de aves migratorias infectadas procedentes de África [138]. El virus podría circular de manera silente durante muchos meses o incluso años antes de producir brotes, en un ciclo silvestre entre mosquitos y aves, produciendo casos esporádicos o brotes que se originarían por circunstancias excepcionales en las que el virus sobrepasaría el ciclo enzoótico. En Europa diversos análisis evidencian que el VNO habría sido capaz de permanecer durante el invierno en algunas temporadas en países como Italia [18], en Grecia [164] y España [18,41].

1.4. FACTORES AMBIENTALES

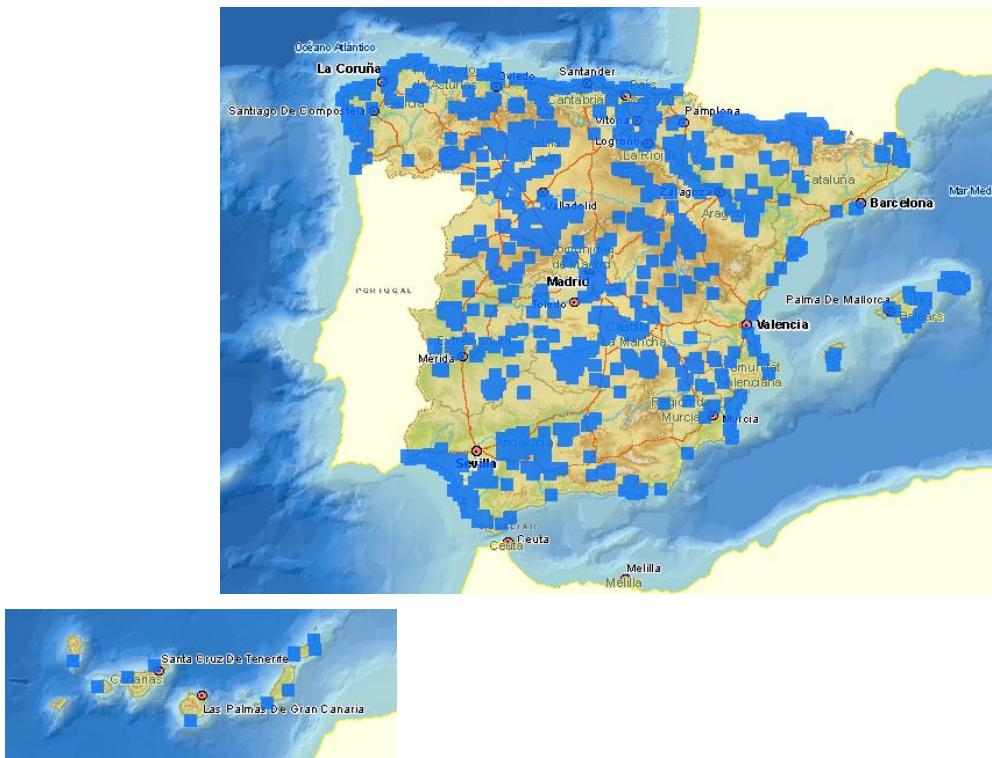
Como todas las arbovirosis, la infección por el VNO se distribuye necesariamente en áreas donde las poblaciones de vectores competentes son los suficientemente abundantes. Los hábitats de los artrópodos dependen de una variedad de condiciones ambientales, incluyendo la temperatura, humedad y disponibilidad de agua [27]. Como se ha mencionado anteriormente, **el mosquito *Culex pipiens* es el vector más común del VNO en Europa.**

Las temperaturas elevadas (30-32°C) promueven una maduración más rápida del mosquito, una reducción del periodo de incubación del virus [42] y un incremento en la replicación viral en el mosquito [45], lo cual incrementa la probabilidad de transmisión del virus. Temperaturas elevadas, por encima de los 35-40°C, podrían resultar fatales para los mosquitos [165] y temperaturas bajas (14-18°C) producen una disminución en su actividad metabólica, en el vuelo y los comportamientos alimentarios [166]. Aunque la presencia invernal como adultos se ha constatado en España para *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Culex perexiguus* y *Culex theileri*, su papel vectorial durante el periodo de bajas temperaturas se considera limitado. Por tanto, **las condiciones óptimas de temperatura para la presencia del *Culex pipiens* y la posible circulación del VNO se producen en España entre abril y octubre.** Dependiendo de las zonas geográficas y de las condiciones climáticas adecuadas (temperaturas altas y ausencia de lluvias importantes), **este periodo podría extenderse hasta finales de noviembre.**

Podría también existir una relación entre la tasa de precipitaciones y la abundancia de *Culex spp*, aunque esta asociación no está tan clara y podría estar influenciada por otros factores locales como la topografía, el tipo de suelo y la vegetación, que favorecerían la capacidad del suelo para crear aguas estancadas, el hábitat preferido de los mosquitos [157]. En general, la relación entre precipitación y abundancia de mosquitos es variable y depende de las diferencias en la ecología y los patrones de selección de hábitats de cada especie [167].

La presencia de hábitats acuáticos parece ser un factor influyente en la supervivencia y la actividad vectorial. Las etapas del desarrollo de los mosquitos *Culex spp* se producen en estos hábitats, y su capacidad de vuelo está limitada a un área no superior a 7 km de las zonas acuáticas. Rodríguez-Prieto y col [157] estimaron que los brotes de VNO que se notificaron entre 1999 y 2010 en Europa y los países mediterráneos se localizaron a una distancia media de 3,2 km de las zonas acuáticas. En España, existe un amplio número de humedales que están distribuidos por todas las CCAA (Figura 16). Sin embargo, aunque la asociación entre VNO y humedales parece clara, no se puede descartar la ocurrencia de transmisión de VNO en otro tipo de entornos; en Europa se han producido dos grandes brotes de infección por VNO en humanos en zonas urbanas, uno en Bucarest en 1996 y otro en Belgrado en 1999 [69].

Figura 16. Mapa de humedales en España.



Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

Geo Portal, disponible en <http://sig.magrama.es/geoportal/>

Las zonas de mayor riesgo de infección por VNO son por tanto aquellas en las que confluyen los distintos factores ecológicos: áreas cercanas a ecosistemas húmedos (humedales, deltas de río, etc.) con las condiciones climáticas que permiten una elevada densidad de mosquitos, con presencia de poblaciones de aves que mantienen el ciclo ave-mosquito y la posibilidad de interacción con poblaciones equinas y humanas susceptibles [158]. La ubicación estratégica en las rutas migratorias de aves procedentes de zonas endémicas puede incrementar el riesgo debido a la posibilidad de introducción o reintroducción del virus o un nuevo linaje a partir de las aves migratorias.

Un reciente estudio en el que se elabora un mapa de riesgo de VNO en España señala que las altas temperaturas y la presencia de humedales son buenos predictores de la circulación del VNO en nuestro país [168].

1.5. RESUMEN DE FACTORES CONDICIONANTES Y RIESGO DE TRANSMISIÓN

Un resumen de los factores condicionantes previamente analizados y su influencia en la probabilidad de transmisión del VNO en humanos, se describe en la siguiente tabla

Tabla 5. Factores condicionantes y riesgo de transmisión del VNO en humanos

FACTORES	ESCENARIOS			
	AUSENCIA DE TRANSMISIÓN (Ausencia de circulación viral)	TRANSMISIÓN ESPORÁDICA (Circulación viral limitada en el ciclo rural ave-mosquito-ave con afectación esporádica a humanos)	TRANSMISIÓN EPIDÉMICA (Amplificación viral en el ciclo ave-mosquito-ave con brotes epidémicos en humanos)	TRANSMISIÓN ENDÉMICA (Amplificación viral en el ciclo ave-mosquito-ave con transmisión regular a humanos)
Aves	Rutas de aves migratorias procedentes de áreas no endémicas o ausencia de rutas de aves migratorias Y El VNO no circula en las aves residentes .	Posibilidad de introducción del virus a partir de poblaciones de aves migratorias con baja prevalencia de VNO Y Escasa o nula participación de las aves residentes en el ciclo de amplificación del VNO.	Alta densidad de aves migratorias con elevada prevalencia de VNO Y/O Participación de las aves residentes en el ciclo de amplificación del VNO.	Poblaciones de aves residentes con circulación establecida del VNO y prevalencia media-alta Y Posibilidad de reintroducción a partir de poblaciones de aves migratorias .
Vectores	Ausencia de mosquitos potencialmente vectores. (Factor climático favorecedor: isothermas inferiores a 20°C en verano)	Densidad media de mosquitos potencialmente vectores. (Factor climático favorecedor: temperaturas medias-elevadas)	Densidad alta de mosquitos potencialmente vectores y hábitos antropófilos. (Factor climático favorecedor: temperaturas elevadas, 30-32°C)	Densidad media-alta de mosquitos potencialmente vectores y hábitos antropófilos. (Factor climático favorecedor: temperaturas medias-elevadas)
Humanos	Susceptibilidad de la población elevada.	Susceptibilidad de la población elevada Y Ciclo ave-mosquito-ave en entornos alejados de las poblaciones humanas.	Susceptibilidad de la población elevada Y Ciclo ave-mosquito-ave en entornos con elevada densidad de población humana.	Susceptibilidad de la población media Y Ciclo ave-mosquito-ave en entornos con densidad de población humana media-elevada.

Fuente: Elaboración propia

La fiebre por el virus del Nilo Occidental en Europa se considera una enfermedad emergente debido a la extensión en años recientes a nuevas áreas geográficas y poblaciones [166,169]. Parte de este incremento puede deberse a un mayor conocimiento del virus y a avances en los sistemas de vigilancia y en la capacidad diagnóstica [7]. Sin embargo, hay otros factores que se detallan a continuación que pueden estar asociados a esta situación y con un potencial impacto en la epidemiología de la enfermedad en España.

1. La península ibérica se encuentra ubicada entre las isoterma de 10°C y de 20°C, quedando el norte y las regiones centrales entre 15° y 10°C. Las regiones del sur se encontrarían por encima de la isoterma de 15°C. El cambio climático, en la medida en que predice un aumento en la temperatura global, puede facilitar la presencia de vectores en todo el territorio peninsular [170]. Los cambios en la temperatura, precipitaciones y humedad asociados al cambio climático modifican el hábitat de los mosquitos y pueden tener un impacto importante en la transmisión de las arbovirosis al incrementar la densidad de los vectores, su distribución geográfica y su periodo de actividad.

2. Las preferencias en la alimentación de los mosquitos pueden tener un impacto importante en la epidemiología del VNO. En EEUU algunos estudios sugieren que determinadas especies cambian sus preferencias de las aves hacia los mamíferos al final del verano, lo que puede intensificar las epidemias en humanos [48]. En España se han puesto también de relieve las posibles diferencias en el riesgo de transmisión del VNO según las especies de mosquitos existentes, lo que conduciría a una importante heterogeneidad geográfica [40].

3. Aunque los linajes 1 subtipo 1a y 2 del VNO sean los más ampliamente distribuidos en Europa, la identificación de otros linajes circulantes en la región, hasta ahora no relacionados con brotes humanos, podrían causar cambios en la circulación viral y tener también un impacto en la transmisión.

4. Las modificaciones en la actividad o en la demografía humana, como pueden ser la urbanización de zonas rurales, pueden conducir a una mayor interacción de la población con el ciclo ave-mosquito y a una mayor probabilidad de infección [171].

2. IMPACTO

El impacto dependerá del escenario de transmisión a humanos y por tanto de la incidencia de la infección, pero condicionado por la presentación de la enfermedad. En este sentido, el impacto **en términos de morbimortalidad** se verá atenuado teniendo en cuenta que en torno al 70%-80% de los casos de infección humana por VNO son asintomáticos y menos del 1% de los casos desarrollan enfermedad neuroinvasiva, tal y como se ha descrito en el apartado A. Sin embargo, en escenarios de transmisión epidémica y endémica en los que se incrementa el número de casos, el impacto puede ser elevado.

En EEUU se ha estimado una media de 5 días de pérdida de productividad en los casos de enfermedad febril no complicada por VNO [172] y una media de 8 días de hospitalización (con 7 días de cuidados intensivos) para los casos de enfermedad neuroinvasiva [173], en los que además puede producirse incapacidad a largo plazo comparable a la derivada de la enfermedad cerebrovascular hemorrágica [172].

Otros efectos de la transmisión del VNO a humanos serían **los derivados de la necesidad de implementar medidas de control**.

Por otro lado, los brotes en humanos requieren también la implementación de medidas de control vectorial, tales como el mapeo de los lugares de cría de los mosquitos potencialmente vectores, la aplicación de larvicidas y el control de los mosquitos adultos, que implican tomar en cuenta también los posibles factores ambientales asociados [174]. En el análisis de los costos sanitarios directos e indirectos y no sanitarios del brote de VNO en Louisiana, EEUU, en el año 2002, las actividades de vigilancia entomológica y control vectorial supusieron el 41% del coste total [173].

Otras medidas necesarias serían las relacionadas con la comunicación del riesgo a la población y a los profesionales de salud y el fortalecimiento de las capacidades diagnósticas y de la vigilancia epidemiológica.

3. CONCLUSIONES

España reúne todas las condiciones que pueden favorecer la circulación del VNO: gran variedad de posibles reservorios; etapa en las rutas migratorias de aves procedentes de áreas endémicas; proximidad a zonas endémicas como África y Oriente Próximo; diversidad de vectores ampliamente difundidos por la geografía española; presencia del principal vector implicado en el ciclo de amplificación aviar (mosquitos del género *Culex*) en todo el territorio, y características ecológicas y climáticas favorables (amplias zonas y largos periodos del año con temperaturas óptimas para la supervivencia del vector, gran cantidad de humedales).

La probabilidad de infección en población humana viene determinada por la probabilidad de exposición a mosquitos infectados. El entorno ideal para que la transmisión a humanos se produzca sería el de proximidad geográfica entre poblaciones humanas y zonas donde interaccionan vectores con aves infectadas. Además, las temporadas ideales son aquellas de especial abundancia de mosquitos y en las que la densidad de aves disminuye, que coinciden con el fin de la estación de cría y el inicio de la migración de otoño, lo que lleva a los mosquitos vectores, habitualmente ornitófilos, a alimentarse de forma oportunista de mamíferos (animales o humanos).

Los datos de la vigilancia y los diferentes estudios realizados apuntan a que el VNO ha circulado en diversas zonas de España desde al menos los años 2000. Existe el riesgo de introducción o reintroducción del virus a partir de aves migratorias infectadas procedentes de zonas con circulación viral, pero además las evidencias disponibles indican que existe una **circulación establecida del VNO en algunas áreas de España, mantenida en un ciclo enzootico entre las aves como hospedadores y los mosquitos vectores**, de manera similar a la situación identificada en otros países de Europa [10]. Hasta el momento estas áreas parecen estar ubicadas fundamentalmente en la región suroeste del país, en Andalucía. Sin embargo, los estudios serológicos y los hallazgos recogidos en esta evaluación del riesgo, ponen en evidencia la extensión de la circulación del VNO a zonas más amplias de nuestro país. La detección de aves residentes seropositivas para VNO; los estudios filogenéticos de los virus circulantes, las condiciones climáticas que permiten la actividad continuada de los mosquitos; la transmisión vertical transovárica del VNO; la capacidad del virus de sobrevivir al invierno en los mosquitos *Culex pipiens* y *Culex perexiguus*, y la recurrencia de casos equinos en las mismas zonas durante años consecutivos, en las que también se han identificado casos humanos apoyan esta hipótesis de endemización de la infección en dichas áreas.

Hasta el momento, se han identificado cinco casos de enfermedad neuroinvasiva por VNO en humanos en España (dos en 2010 y tres en 2016). Los estudios disponibles han encontrado bajas seroprevalencias de anticuerpos en población humana, en contraste con los mayores porcentajes de seropositividad detectados en determinadas poblaciones de aves y caballos. Esto sería consistente con que **la circulación del VNO en España estuviera centrada fundamentalmente en determinadas zonas rurales cercanas a humedales y con abundantes poblaciones de aves**. Los municipios de las CCAA donde se han identificado los casos equinos en los últimos años, reunirían esas características.

El escenario futuro más plausible es el del **mantenimiento de la circulación del VNO en áreas donde se ha demostrado en años anteriores, con una extensión a otras áreas** en las que se dan las condiciones ecológicas favorables. Lo más probable es que **la aparición de casos humanos continúe siendo esporádica y limitada espacial y temporalmente**, en función de diferentes factores como condiciones climáticas, densidad de vectores y proximidad de población humana susceptible. Sin embargo, no se puede descartar un escenario de transmisión epidémica con un mayor número de personas afectadas en determinadas áreas, sobre todo si se establecen ciclos de circulación viral en las aves residentes de hábitats más próximos a las zonas pobladas. Hay que considerar también el escenario de transmisión en algunos países europeos cercanos (con un incremento en la

notificación de casos, áreas de riesgo y la identificación del linaje 2), que pudiesen llegara a producirse en España.

En cuanto al **potencial impacto, en términos de morbi-mortalidad de la infección por VNO en humanos**, es característico que la mayoría de los casos sean asintomáticos y, a pesar de que estudios serológicos previos han determinado una elevada susceptibilidad a la infección de la población española, la probabilidad de enfermedad neuroinvasora y muerte se considera baja.

4. RECOMENDACIONES

- Abordar de forma integral y multidisciplinar la vigilancia y control de la circulación del VNO en España. Para ello se debe reforzar la coordinación a nivel local, autonómico y nacional entre los sectores de salud humana, animal y ambiental. El VNO debe integrarse en el Plan Nacional Integral de Preparación y Respuesta frente a Arbovirosis.
- Consolidar la vigilancia epidemiológica de la Fiebre del Nilo Occidental en humanos en España, en base al protocolo aprobado por la Ponencia de Vigilancia, el cual indica la obligatoriedad de la notificación inmediata e incluye la vigilancia activa en humanos cuando se detecte circulación viral. En la Unión Europea, la Fiebre por VNO es también de declaración obligatoria a la Red de Vigilancia Europea desde diciembre de 2007.
- Difundir el protocolo de vigilancia y de manejo de la enfermedad entre los médicos de atención primaria y especializada fundamentalmente en las áreas donde se detecte circulación viral, para favorecer el diagnóstico diferencial de fiebre por VNO.
- Disponer de mayor información sobre la participación de las aves residentes en el ciclo de amplificación viral, ya que es de especial interés por su implicación en la endemización del virus.
- Reforzar la vigilancia entomológica y la vigilancia en équidos, que ha demostrado su utilidad como signo centinela de circulación viral y de la posible aparición de casos en humanos.
- Reforzar las actividades de control vectorial en las áreas prioritarias.
- Garantizar la seguridad de la sangre y componentes ante la posible aparición de casos de infección por VNO en humanos mediante la aplicación de las medidas acordadas por el Comité científico para la seguridad transfusional (CCST) [175] y que pueden ser consultadas en el siguiente enlace: http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/medicinaTransfusional/acuerdos/docs/Virus_Nilo.pdf
- Informar a la población a riesgo y promover medidas de protección individual frente a mosquitos en las áreas en las que se demuestre circulación viral.

Anexo 1. Ficha técnica del Virus del Nilo Occidental.

AGENTE INFECCIOSO
<p>Nombre: Virus del Nilo Occidental (VNO) Características: Pertenece a la familia <i>Flaviviridae</i>, género <i>Flavivirus</i> y al complejo antigénico de la Encefalitis Japonesa.</p>
EPIDEMIOLOGÍA
<p>El VNO fue descubierto por primera vez en 1937 en Uganda. Es endozoótico en gran parte de África, Oriente Próximo, sudeste asiático y Asia occidental y Australia. En América del Norte se considera actualmente endémico tras su introducción en el año 1999. En algunas zonas de Europa del Sur el patrón de circulación apunta a la endemización del virus.</p>
RESERVORIOS
<p>El VNO tiene una amplia gama de hospedadores. Se replica en aves, reptiles, anfibios, mamíferos, mosquitos y garrapatas. Las aves son el reservorio natural amplificador del VNO. El ser humano y los caballos, como la mayoría de los mamíferos, no se desarrollan viremia suficiente para contribuir a la transmisión del virus.</p>
MODO DE TRANSMISIÓN
<p>El principal modo de transmisión es por picadura de mosquitos infectados. Los vectores principales son los mosquitos <i>Culex</i>. Otras vías posibles de transmisión son transfusión de sangre, trasplante de órganos y transmisión transplacentaria.</p>
PERIODO DE INCUBACIÓN
<p>Por lo regular oscila entre 2 y 6 días, aunque puede extenderse a 14 días, o hasta 21 días para pacientes trasplantados.</p>
PATOGENICIDAD
<p>La mayoría de los individuos infectados con el VNO permanecen asintomáticos. La fiebre por VNO es típicamente una enfermedad leve que dura entre 2 y 5 días. Los síntomas más habituales son fiebre, cefalea, artralgia, mialgia, malestar general. Algunos pacientes pueden presentar linfadenopatía generalizada y exantema maculopapular. Menos del 1% de los individuos con infección por VNO desarrollan enfermedad neuroinvasiva en forma de meningitis, encefalitis y/o parálisis flácida aguda. La incidencia de enfermedad neuroinvasiva y la letalidad es mayor en las personas de edad avanzada.</p>
MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL
<p>Educar a la población sobre las formas de diseminación y prevención. Reducir el riesgo de transmisión por los mosquitos: evitar la exposición a los mosquitos durante las horas en las que acostumbran picar o utilizar repelentes y proteger las habitaciones y dormitorios con mallas de mosquitero. Implementar programas de vigilancia y control de los mosquitos en las zonas donde circula el virus. Efectuar estudios para reconocer las especies locales de mosquitos que intervienen en la transmisión, en particular las que pudieran servir de puente entre las aves y las personas. Implementar medidas de control integradas, como son la eliminación de criaderos y la aplicación de productos químicos o el uso de métodos biológicos. Existe una vacuna disponible para caballos, que puede utilizarse en las zonas endémicas.</p>

REFERENCIAS

1. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS et al. West Nile virus. *Lancet Infect. Dis.* 2002;2(9):519-529.
2. Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. *Clin Lab Med.* 2010;30(1):47-65.
3. Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V et al. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology.* 2002;298(1):96-105.
4. Díaz LA, Quaglia A, Flores F et al. Virus West Nile en Argentina: un agente infeccioso emergente que plantea nuevos desafíos. 2011. *Hornero.* 2011;26(1):5-28.
5. Rizzoli A, Jimenez-Clavero MA, Barzon L et al. The challenge of West Nile virus in Europe: knowledge gaps and research priorities. *Euro. Surveill.* 2015;20(20).
6. Charrel RN, Braut AC, Gallian P et al. Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. *Virology.* 2003;315(2):381-388.
7. Reiter P. West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro. Surveill.* 2010;15(10):19508.
8. Bakonyi T, Ivanics E, Erdelyi K et al. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2006;12(4):618-623.
9. Platonov AE, Karan' LS, Shopenskaia TA et al. [Genotyping of West Nile fever virus strains circulating in southern Russia as an epidemiological investigation method: principles and results]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2011;(2):29-37.
10. European Centre for Diseases Prevention and Control. Review of the epidemiological situation of West Nile infection in the European Union. 2011. Stockholm.
11. Papa A, Bakonyi T, Xanthopoulou K et al. Genetic characterization of West Nile virus lineage 2, Greece, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011;17(5):920-922.
12. Sirbu A, Ceianu CS, Panculescu-Gatej RI et al. Outbreak of West Nile virus infection in humans, Romania, July to October 2010. *Euro. Surveill.* 2011;16(2).
13. Bagnarelli P, Marinelli K, Trotta D et al. Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy, September 2011. *Euro. Surveill.* 2011;16(43).
14. Barzon L, Pacenti M, Franchin E et al. Clinical and virological findings in the ongoing outbreak of West Nile virus Livenza strain in northern Italy, July to September 2012. *Euro. Surveill.* 2012;17(36):20260.
15. Kolodziejek J, Marinov M, Kiss BJ et al. The complete sequence of a West Nile virus lineage 2 strain detected in a *Hyalomma marginatum marginatum* tick collected from a song thrush (*Turdus philomelos*) in eastern Romania in 2013 revealed closest genetic relationship to strain Volgograd 2007. *PLoS. One.* 2014;9(10):e109905.
16. May FJ, Davis CT, Tesh RB et al. Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol.* 2011;85(6):2964-2974.
17. Pybus OG, Suchard MA, Lemey P et al. Unifying the spatial epidemiology and molecular evolution of emerging epidemics. *Proc. Natl Acad Sci U. S. A.* 2012;109(37):15066-15071.
18. Sotelo E, Fernandez-Pinero J, Llorente F et al. Phylogenetic relationships of Western Mediterranean West Nile virus strains (1996-2010) using full-length genome sequences: single or multiple introductions? *J Gen. Virol.* 2011;92(Pt 11):2512-2522.
19. Bakonyi T, Hubalek Z, Rudolf I et al. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;11(2):225-231.

20. Lvov DK, Butenko AM, Gromashevsky VL et al. West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations. *Arch. Virol. Suppl.* 2004;(18):85-96.
21. Vazquez A, Sanchez-Seco MP, Ruiz S et al. Putative new lineage of west nile virus, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16(3):549-552.
22. Pachler K, Lebl K, Berer D et al. Putative new West Nile virus lineage in Uranotaenia unguiculata mosquitoes, Austria, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2014;20(12):2119-2122.
23. Pesko KN, Ebel GD. West Nile virus population genetics and evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2012;12(2):181-190.
24. Beck C, Jimenez-Clavero MA, Leblond A et al. Flaviviruses in Europe: complex circulation patterns and their consequences for the diagnosis and control of West Nile disease. *Int J Environ. Res Public Health.* 2013;10(11):6049-6083.
25. Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* 2010;85(2):328-345.
26. Randolph SE, Rogers DJ. The arrival, establishment and spread of exotic diseases: patterns and predictions. *Nat. Rev Microbiol.* 2010;8(5):361-371.
27. Jimenez-Clavero MA. Animal viral diseases and global change: bluetongue and West Nile fever as paradigms. *Front Genet.* 2012;3:105.
28. Komar N, Langevin S, Hinten S et al. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9(3):311-322.
29. Perez-Ramirez E, Llorente F, Jimenez-Clavero MA. Experimental infections of wild birds with West Nile virus. *Viruses.* 2014;6(2):752-781.
30. LaDeau SL, Kilpatrick AM, Marra PP. West Nile virus emergence and large-scale declines of North American bird populations. *Nature.* 2007;447(7145):710-713.
31. Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 1999;5(5):643-650.
32. Gray TJ, Webb CE. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Int J Gen. Med.* 2014;7:193-203.
33. McLean RG, Ubico SR, Bourne D et al. West Nile virus in livestock and wildlife. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002;267:271-308.
34. Kilpatrick AM. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus. *Science.* 2011;334(6054):323-327.
35. Ferraguti M, LA Puente JM, Soriguer R et al. West Nile virus-neutralizing antibodies in wild birds from southern Spain. *Epidemiol. Infect.* 2016;144(9):1907-1911.
36. Hamer GL, Kitron UD, Goldberg TL et al. Host selection by Culex pipiens mosquitoes and West Nile virus amplification. *Am. J Trop. Med Hyg.* 2009;80(2):268-278.
37. Kwan JL, Kluh S, Reisen WK. Antecedent avian immunity limits tangential transmission of West Nile virus to humans. *PLoS. One.* 2012;7(3):e34127.
38. Reisen WK. Ecology of West Nile virus in North America. *Viruses.* 2013;5(9):2079-2105.
39. Balenghien T. De L'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection das le sud de la France. Université Joseph Fourier 2006. Grenoble, France.
40. Muñoz J., Ruiz S, Soriguer R et al. Feeding patterns of potential West Nile virus vectors in south-west Spain. *PLoS. One.* 2012;7(6):e39549.
41. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. Manual práctico de operaciones en la lucha contra la fiebre del nilo occidental en explotacione equinas 2015.
42. Dohm DJ, O'Guinn ML, Turell MJ. Effect of environmental temperature on the ability of Culex pipiens (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol.* 2002;39(1):221-225.

43. Richards SL, Anderson SL, Lord CC et al. Relationships between infection, dissemination, and transmission of West Nile virus RNA in *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 2012;49(1):132-142.
44. Unlu I, Mackay AJ, Roy A et al. Evidence of vertical transmission of West Nile virus in field-collected mosquitoes. *J Vector. Ecol.* 2010;35(1):95-99.
45. Kilpatrick AM, Meola MA, Moudy RM et al. Temperature, viral genetics, and the transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* mosquitoes. *PLoS. Pathog.* 2008;4(6):e1000092.
46. Richards SL, Mores CN, Lord CC et al. Impact of extrinsic incubation temperature and virus exposure on vector competence of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2007;7(4):629-636.
47. Vinogradova E. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, Applied importance and Control. Sofía (Bulgaria): Pensoft publisher; 2000.
48. Kilpatrick AM, Kramer LD, Jones MJ et al. West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *PLoS. Biol.* 2006;4(4):e82.
49. Nasci RS, Savage HM, White DJ et al. West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg. Infect. Dis.* 2001;7(4):742-744.
50. Perez RM, Gamez SS, Clavero MA. [West Nile virus infection]. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2011;29 Suppl 5:21-26.
51. Zeller HG, Schuffenecker I. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur. J Clin Microbiol. Infect. Dis.* 2004;23(3):147-156.
52. Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA et al. Surveillance for human West Nile virus disease - United States, 1999-2008. *MMWR Surveill Summ.* 2010;59(2):1-17.
53. Gubler DJ. The continuing spread of West Nile virus in the western hemisphere. *Clin Infect. Dis.* 2007;45(8):1039-1046.
54. Del GP, Schuffenecker I, Vandenbos F et al. Human West Nile virus, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2004;10(10):1885-1886.
55. Bernkopf H, Levine S, Nerson R. Isolation of West Nile virus in Israel. *J Infect Dis.* 1953;93(3):207-218.
56. Murgue B, Murri S, Triki H et al. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann N. Y Acad Sci.* 2001;951:117-126.
57. Sejvar JJ. West Nile virus: an historical overview. *Ochsner. J.* 2003;5(3):6-10.
58. Tsai TF, Popovici F, Cernescu C et al. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet.* 1998;352(9130):767-771.
59. Autorino GL, Battisti A, Deubel V et al. West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2002;8(12):1372-1378.
60. Murgue B, Murri S, Zientara S et al. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg. Infect. Dis.* 2001;7(4):692-696.
61. Connell J., Garvey P., Cotter S. et al. Two linked cases of West Nile virus (WNV) acquired by Irish tourist in the Algarve, Portugal. *Euro. Surveill.* 2004;5(8):32.
62. Krisztalovics K, Ferenczi E, Molnar Z et al. West Nile virus infections in Hungary, August-September 2008. *Euro. Surveill.* 2008;13(45):ii.
63. Barzon L, Squarzon L, Cattai M et al. West Nile virus infection in Veneto region, Italy, 2008-2009. *Euro. Surveill.* 2009;14(31).
64. European Centre for Diseases Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2011. Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data 2012.
65. European Centre for Diseases Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2012. Reporting on 2010 surveillance data and 2011 epidemic intelligence data. 2012.

66. Danis K, Papa A, Papanikolaou E et al. Ongoing outbreak of West Nile virus infection in humans, Greece, July to August 2011. *Euro. Surveill.* 2011;16(34).
67. European Centre for Diseases Prevention and Control. West Nile fever maps. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/west-nile-fever-cases-affected-areas-europe-and-mediterranean-2012-transmission>. [consultado 23.10.17].
68. Platonov AE, Tolpin VA, Gridneva KA et al. The incidence of West Nile disease in Russia in relation to climatic and environmental factors. *Int J Environ. Res Public Health.* 2014;11(2):1211-1232.
69. Calistri P, Giovannini A, Hubalek Z et al. Epidemiology of west nile in europe and in the mediterranean basin. *Open. Virol. J.* 2010;4:29-37.
70. Feki I, Marrakchi C, Ben HM et al. Epidemic West Nile virus encephalitis in Tunisia. *Neuroepidemiology.* 2005;24(1-2):1-7.
71. Schuffenecker I, Peyrefitte CN, El HM et al. West Nile virus in Morocco, 2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;11(2):306-309.
72. El RH, El HM, Lotfi C et al. Serologic evidence of West Nile virus infection among humans, Morocco. *Emerg. Infect. Dis.* 2012;18(5):880-881.
73. Benjelloun A, El HM, Belkadi B. West Nile Disease Epidemiology in North-West Africa: Bibliographical Review. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016;63(6):e153-e159.
74. Center for Diseases Control and Prevention. West Nile virus disease cases and deaths reported to CDC by year and clinical presentation, 1999-2015. http://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/data/1-wnv-disease-cases-by-year-1999-2015_07072016.pdf. [consultado 23.10.17].
75. Center for Diseases Control and Prevention. West Nile Virus Disease Cases* and Presumptive Viremic Blood Donors by State - United States, 2016 (as of January 17, 2017). <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata/histatedate.html>. [consultado 23.10.17].
76. Custer B, Busch MP, Marfin AA et al. The cost-effectiveness of screening the U.S. blood supply for West Nile virus. *Ann Intern. Med.* 2005;143(7):486-492.
77. Korves CT, Goldie SJ, Murray MB. Cost-effectiveness of alternative blood-screening strategies for West Nile Virus in the United States. *PLoS. Med.* 2006;3(2):e21.
78. Public Health Agency of Canada. Surveillance of West Nile virus. <http://healthycanadians.gc.ca/diseases-conditions-maladies-affections/disease-maladie/west-nile-nil-occidental/surveillance-eng.php>. [consultado 23.10.17].
79. Komar N, Clark GG. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam. Salud Publica.* 2006;19(2):112-117.
80. Dupuis AP, Marra PP, Kramer LD. Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9(7):860-863.
81. Quirin R, Salas M, Zientara S et al. West Nile virus, Guadeloupe. *Emerg. Infect. Dis.* 2004;10(4):706-708.
82. Komar O, Robbins MB, Klenk K et al. West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9(10):1299-1302.
83. Estrada-Franco JG, Navarro-Lopez R, Beasley DW et al. West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9(12):1604-1607.
84. Lorono-Pino MA, Blitvich BJ, Farfan-Ale JA et al. Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Yucatan State, Mexico. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9(7):857-859.
85. Farfan-Ale JA, Blitvich BJ, Lorono-Pino MA et al. Longitudinal studies of West Nile virus infection in avians, Yucatan State, Mexico. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2004;4(1):3-14.

86. Fernandez-Salas I, Contreras-Cordero JF, Blitvich BJ et al. Serologic evidence of West Nile Virus infection in birds, Tamaulipas State, Mexico. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2003;3(4):209-213.
87. Ramos C., Falcón Lezama JA. West Nile fever: an emerging diseases in Mexico. *Salud Publica Mex.* 2004;46(5):488-490.
88. Cruz L, Cardenas VM, Abarca M et al. Short report: serological evidence of West Nile virus activity in El Salvador. *Am. J Trop. Med Hyg.* 2005;72(5):612-615.
89. Dupuis AP, Marra PP, Reitsma R et al. Serologic evidence for West Nile virus transmission in Puerto Rico and Cuba. *Am. J Trop. Med Hyg.* 2005;73(2):474-476.
90. Pupo M, Guzman MG, Fernandez R et al. West Nile Virus infection in humans and horses, Cuba. *Emerg. Infect. Dis.* 2006;12(6):1022-1024.
91. Mattar S, Edwards E, Laguado J et al. West Nile virus antibodies in Colombian horses. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;11(9):1497-1498.
92. Bosch I, Herrera F, Navarro JC et al. West Nile virus, Venezuela. *Emerg. Infect. Dis.* 2007;13(4):651-653.
93. Pauvolid-Correa A, Morales MA, Levis S et al. Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2011;106(4):467-474.
94. Kaptoul D, Viladrich PF, Domingo C et al. West Nile virus in Spain: report of the first diagnosed case (in Spain) in a human with aseptic meningitis. *Scand. J Infect. Dis.* 2007;39(1):70-71.
95. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. Plan Nacional de Vigilancia de la Encefalitis del Oeste del Nilo 2016. West Nile en España. http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/plan_vigilancia_wn_2016_tcm7-412698.pdf.
96. Garcia-Bocanegra I, Jaen-Tellez JA, Napp S et al. West Nile fever outbreak in horses and humans, Spain, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2011;17(12):2397-2399.
97. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. Red de Alerta Sanitaria Veterinaria (RASVE). Focos Fiebre del Nilo Occidental (West Nile). <https://servicio.magrama.gob.es/rasve/Publica/Focos/Consulta.aspx>. [consultado 26.10.16].
98. Bueno-Marí R., Bernúes-Bañeres A., Jiménez-Peydró R. Update checklist and distribution maps of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Spain. *European Mosquito Bulletin.* 2012;30:91-126.
99. Hjorth-Andersen MC. Catálogo de los Díptera de España, Portugal y Andorra (Insecta). *Monografías. Sociedad Entomológica Aragonesa.* 2002;8:4-279.
100. Fernandes T., Clode MHH., Simoes MJ. et al. Isolation of virus West Nile from a pool of unfed atroparvus females in the Tejo River estuary. *Acta Parasitol. Port.* 1998;5(7).
101. Center for Diseases Control and Prevention. Mosquitoes species in which West Nile virus has been detected, United States, 1999-2012. <http://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/MosquitoSpecies1999-2012.pdf>.
102. Hannoun C., Panthier R., Mouchet J. et al. [Isolation in France of the West Nile virus from patients and from the vector Culex Modestus Ficalbi. *C. R. Hebd. Seances Acad Sci.* 1964;259:4170-4172.
103. Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G et al. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am. J Trop. Med Hyg.* 1999;61(4):600-611.
104. Fyodorova MV, Savage HM, Lopatina JV et al. Evaluation of potential West Nile virus vectors in Volgograd region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): species composition, bloodmeal host utilization, and virus infection rates of mosquitoes. *J Med Entomol.* 2006;43(3):552-563.
105. Almeida AP, Galao RP, Sousa CA et al. Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection. *Trans. R. Soc. Trop. Med Hyg.* 2008;102(8):823-832.

106. Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z et al. First isolation of mosquito-borne West Nile virus in the Czech Republic. *Acta Virol.* 1998;42(2):119-120.
107. Samina I, Margalit J, Peleg J. Isolation of viruses from mosquitoes of the Negev, Israel. *Trans. R. Soc. Trop. Med Hyg.* 1986;80(3):471-472.
108. Nicolescu G., Vladimirescu A., Purcarea-Ciulacu V., Prioteasa L. West Nile virus circulation in Romania -The past and the present- 2010. Montpellier (France).
109. Angelini P, Tamba M, Finarelli AC et al. West Nile virus circulation in Emilia-Romagna, Italy: the integrated surveillance system 2009. *Euro. Surveill.* 2010;15(16).
110. McIntosh BM, Jupp PG, Dickinson DB et al. Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. I. Viral activity as revealed by infection of mosquitoes and sentinel fowls. *S. Afr. J Med Sci.* 1967;32(1):1-14.
111. Vazquez A, Ruiz S, Herrero L et al. West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008-2009. *Am. J Trop. Med Hyg.* 2011;85(1):178-181.
112. Orshan L, Bin H, Schnur H et al. Mosquito vectors of West Nile Fever in Israel. *J Med Entomol.* 2008;45(5):939-947.
113. Miller BR, Nasci RS, Godsey MS et al. First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley province, Kenya. *Am. J Trop. Med Hyg.* 2000;62(2):240-246.
114. Hurlbut H.S., Rizk F., Taylor R.M. et al. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am. J Trop. Med Hyg.* 1956;5(4):579-620.
115. Jupp PG, McIntosh BM. Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. II. Mosquito bionomics. *S. Afr. J Med Sci.* 1967;32(1):15-33.
116. Berezin V.V. Investigation of the ecology of arboviruses in river deltas of the Caspian and Azov Sea basins. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300344306>. [consultado 23.10.17].
117. Labuda M., Kozuch O., Gresikova M. Isolation of West Nile virus from *Aedes cantans* mosquitoes in west Slovakia. *Acta Virol.* 1974;18:429-433.
118. Bueno MR, Jimenez PR. [Current status and eco-epidemiology of mosquito-borne arboviruses (Diptera: Culicidae) in Spain]. *Rev Esp. Salud Publica.* 2010;84(3):255-269.
119. Ferraguti M, Martinez-de la Puente J, Roiz D et al. Effects of landscape anthropization on mosquito community composition and abundance. *Sci Rep.* 2016;6:29002.
120. Hamer GL, Kitron UD, Brawn JD et al. *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): a bridge vector of West Nile virus to humans. *J Med Entomol.* 2008;45(1):125-128.
121. Muñoz J., Eritja R, Alcaide M et al. Host-feeding patterns of native *Culex pipiens* and invasive *Aedes albopictus* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in urban zones from Barcelona, Spain. *J Med Entomol.* 2011;48(4):956-960.
122. Amraoui F, Krida G, Bouattour A et al. *Culex pipiens*, an experimental efficient vector of West Nile and Rift Valley fever viruses in the Maghreb region. *PLoS. One.* 2012;7(5):e36757.
123. Collantes F, Delacour S, Delgado JA et al. Updating the known distribution of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in Spain 2015. *Acta Trop.* 2016;164:64-68.
124. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad, Universidad de Zaragoza. Instituto de Salud Carlos III. Proyecto de Vigilancia entomológica en aeropuertos y puertos frente a vectores importados de enfermedades infecciosas exóticas, y vigilancia de potenciales vectores autóctonos de dichas enfermedades, 2015. http://www.msssi.es/profesionales/saludPublica/ccayes/activPreparacionRespuesta/doc/Resumen_Vigilancia_entomologica_2015.pdf. [consultado 14.3.17].
125. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Plan Nacional de Preparación y Respuesta frente a Enfermedades Transmitidas por Vectores. https://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/DocsZika/Plan_Nac_inf_vectores_20160720.pdf. [consultado 10.10.17].

126. Vazquez A, Sanchez-Seco MP, Palacios G et al. Novel flaviviruses detected in different species of mosquitoes in Spain. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2012;12(3):223-229.
127. Lopez-Velez R, Molina MR. [Climate change in Spain and risk of infectious and parasitic diseases transmitted by arthropods and rodents]. *Rev Esp. Salud Publica.* 2005;79(2):177-190.
128. Eritja R., Escosa R., Lucientes J. et al. Worldwide invasion of vector mosquitoes: Present European distribution and challenges for Spain. *Biological Invasions.* 2005;7(1):87-97.
129. Nemeth N, Gould D, Bowen R et al. Natural and experimental West Nile virus infection in five raptor species. *J Wildl. Dis.* 2006;42(1):1-13.
130. Reed KD, Meece JK, Henkel JS et al. Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, influenza A and enteropathogens. *Clin Med Res.* 2003;1(1):5-12.
131. Balanca G, Gaidet N, Savini G et al. Low West Nile virus circulation in wild birds in an area of recurring outbreaks in Southern France. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2009;9(6):737-741.
132. Balenghien T, Vazeille M, Grandadam M et al. Vector competence of some French Culex and Aedes mosquitoes for West Nile virus. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2008;8(5):589-595.
133. Chevalier V, Reynaud P, Lefrancois T et al. Predicting West Nile virus seroprevalence in wild birds in Senegal. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2009;9(6):589-596.
134. Ferraguti Martina. Biodiversity and vector-borne diseases: effects of landscape, mosquito and vertebrate communities on the transmission of West Nile virus and avian malaria parasites. Tesis doctoral. 2017.
135. Figuerola J, Jimenez-Clavero MA, Rojo G et al. Prevalence of West Nile virus neutralizing antibodies in colonial aquatic birds in southern Spain. *Avian Pathol.* 2007;36(3):209-212.
136. Hofle U, Blanco JM, Crespo E et al. West Nile virus in the endangered Spanish imperial eagle. *Vet. Microbiol.* 2008;129(1-2):171-178.
137. Jimenez-Clavero MA, Sotelo E, Fernandez-Pinero J et al. West Nile virus in golden eagles, Spain, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2008;14(9):1489-1491.
138. Jourdain E, Toussaint Y, Leblond A et al. Bird species potentially involved in introduction, amplification, and spread of West Nile virus in a Mediterranean wetland, the Camargue (Southern France). *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2007;7(1):15-33.
139. Sotelo E, Gutierrez-Guzman AV, del AJ et al. Pathogenicity of two recent Western Mediterranean West Nile virus isolates in a wild bird species indigenous to Southern Europe: the red-legged partridge. *Vet. Res.* 2011;42:11.
140. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. Informe Epidemiológico de la Fiebre del Nilo Occidental (FNO) en España. (Abril de 2016). http://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/informeepidemwnabril2016_tcm7-416877.pdf. [consultado 17.4.17].
141. Jourdain E, Gauthier-Clerc M, Bicout DJ et al. Bird migration routes and risk for pathogen dispersion into western Mediterranean wetlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2007;13(3):365-372.
142. Departamento de Sanidad Ambiental. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Análisis probabilístico del riesgo potencial de entrada y difusión de la Fiebre del Nilo Occidental y de la Peste Equina Africana en España. 2012.
143. Lopez G, Jimenez-Clavero MA, Tejedor CG et al. Prevalence of West Nile virus neutralizing antibodies in Spain is related to the behavior of migratory birds. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2008;8(5):615-621.
144. Figuerola J, Jimenez-Clavero MA, Lopez G et al. Size matters: West Nile Virus neutralizing antibodies in resident and migratory birds in Spain. *Vet. Microbiol.* 2008;132(1-2):39-46.
145. Garcia-Bocanegra I, Busquets N, Napp S et al. Serosurvey of West Nile virus and other flaviviruses of the Japanese encephalitis antigenic complex in birds from Andalusia, southern Spain. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2011;11(8):1107-1113.

146. Lopez G, Jimenez-Clavero MA, Vazquez A et al. Incidence of West Nile virus in birds arriving in wildlife rehabilitation centers in southern Spain. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2011;11(3):285-290.
147. Lozano A., Filipe AR. Antibodies against the West Nile virus and other arthropod-transmitted viruses in the Ebro Delta. *Rev Esp. Salud Publica.* 1998;72(3):245-250.
148. Bofill D, Domingo C, Cardenosa N et al. Human West Nile virus infection, Catalonia, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 2006;12(7):1163-1164.
149. Bernabeu-Wittel M, Ruiz-Perez M, del Toro MD et al. West Nile virus past infections in the general population of Southern Spain. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2007;25(9):561-565.
150. Piron M, Plasencia A, Fleita-Soriano E et al. Low Seroprevalence of West Nile Virus in Blood Donors from Catalonia, Spain. *Vector. Borne. Zoonotic. Dis.* 2015;15(12):782-784.
151. Jimenez-Clavero MA, Tejedor CG, Rojo G et al. Serosurvey of West Nile virus in equids and bovinds in Spain. *Vet. Rec.* 2007;161(6):212.
152. Jimenez-Clavero MA, Llorente F, Sotelo E et al. West Nile virus serosurveillance in horses in Donana, Spain, 2005 to 2008. *Vet. Rec.* 2010;167(10):379-380.
153. Figuerola J, Soriguer R, Rojo G et al. Seroconversion in wild birds and local circulation of West Nile virus, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 2007;13(12):1915-1917.
154. Llorente F, Perez-Ramirez E, Fernandez-Pinero J et al. Flaviviruses in game birds, southern Spain, 2011-2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;19(6):1023-1025.
155. Gangoso L, Grande JM, Llorente F et al. Prevalence of neutralizing antibodies to West Nile virus in Eleonora's Falcons in the Canary Islands. *J Wildl. Dis.* 2010;46(4):1321-1324.
156. OTSA. West Nile. Programa de vigilancia en la Comunidad Autónoma de Castilla y León. Observatorio Transfronterizo de Sanidad Animal (OTSA). http://www.global-sigma.es/jcyl1/index.php?option=com_content&view=article&id=87%3Awestnile&catid=39%3Aunidad-animal&Itemid=64&limitstart=3. [consultado 14.3.17].
157. Rodriguez-Prieto V, Martinez-Lopez B, Martinez M et al. Identification of suitable areas for West Nile virus outbreaks in equid populations for application in surveillance plans: the example of the Castile and Leon region of Spain. *Epidemiol. Infect.* 2012;140(9):1617-1631.
158. Ward MP. Epidemic West Nile virus encephalomyelitis: a temperature-dependent, spatial model of disease dynamics. *Prev Vet. Med.* 2005;71(3-4):253-264.
159. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente. El sector equino en cifras: principales indicadores económicos en el 2014, junio 2015, Dirección General de Productos Ganaderos. http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-ymercados-ganaderos/indicadoreseconomicossectorequino2014_tcm7-386080.pdf. [consultado 23.10.17].
160. Garcia-Bocanegra I, Arenas-Montes A, Napp S et al. Seroprevalence and risk factors associated to West Nile virus in horses from Andalusia, Southern Spain. *Vet. Microbiol.* 2012;160(3-4):341-346.
161. Garcia-Bocanegra I, Jaen-Tellez JA, Napp S et al. Monitoring of the West Nile virus epidemic in Spain between 2010 and 2011. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012;59(5):448-455.
162. Gutierrez-Guzman AV, Vicente J, Sobrino R et al. Antibodies to West Nile virus and related flaviviruses in wild boar, red foxes and other mesomammals from Spain. *Vet. Microbiol.* 2012;159(3-4):291-297.
163. Abad-Cobo A, Llorente F, Barbero MD et al. Serosurvey Reveals Exposure to West Nile Virus in Asymptomatic Horse Populations in Central Spain Prior to Recent Disease Foci. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016.
164. Chaskopoulou A, Dovas C, Chaintoutis S et al. Evidence of enzootic circulation of West Nile virus (Nea Santa-Greece-2010, lineage 2), Greece, May to July 2011. *Euro. Surveill.* 2011;16(31).
165. Epstein PR. West Nile virus and the climate. *J Urban. Health.* 2001;78(2):367-371.

166. Brown C. Emerging zoonoses and pathogens of public health significance--an overview. *Rev Sci Tech.* 2004;23(2):435-442.
167. Roiz D, Ruiz S, Soriguer R et al. Climatic effects on mosquito abundance in Mediterranean wetlands. *Parasit. Vectors.* 2014;7:333.
168. Sanchez-Gomez A, Amela C, Fernandez-Carrion E et al. Risk mapping of West Nile virus circulation in Spain, 2015. *Acta Trop.* 2017;169:163-169.
169. Lindgren E, Andersson Y, Suk JE et al. Public health. Monitoring EU emerging infectious disease risk due to climate change. *Science.* 2012;336(6080):418-419.
170. Pradier S, Lecollinet S, Leblond A. West Nile virus epidemiology and factors triggering change in its distribution in Europe. *Rev Sci Tech.* 2012;31(3):829-844.
171. Gould EA, Higgs S. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. *Trans. R. Soc. Trop. Med Hyg.* 2009;103(2):109-121.
172. Zohrabian A, Hayes EB, Petersen LR. Cost-effectiveness of West Nile virus vaccination. *Emerg. Infect. Dis.* 2006;12(3):375-380.
173. Zohrabian A, Meltzer MI, Ratard R et al. West Nile virus economic impact, Louisiana, 2002. *Emerg. Infect. Dis.* 2004;10(10):1736-1744.
174. McCally M, Garg A, Oleskey C. The challenges of emerging illness in urban environments: an overview. *J Urban. Health.* 2001;78(2):350-358.
175. Comité Científico de Seguridad Transfusional - MSSSI-. Virus del Nilo Occidental (WNO). http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/medicinaTransfusional/acuerdos/docs/Virus_Nilo.pdf. [consultado 16.3.17].