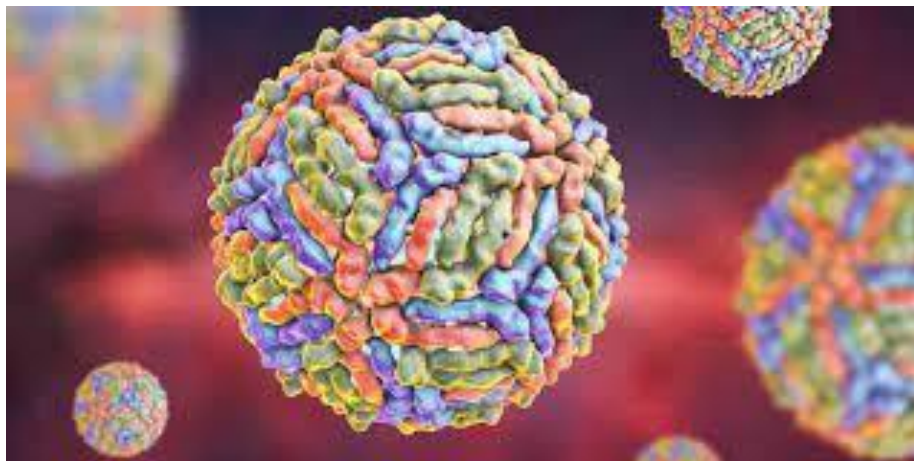


UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA



# ÚLTIMO BROTE DEL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL EN ESPAÑA



Autor: Miguel Ignacio Jiménez Aragón





UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

# **ÚLTIMO BROTE DEL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL EN ESPAÑA**

**AUTOR:** Miguel Ignacio Jiménez Aragón.

**LUGAR Y FECHA DE PRESENTACIÓN:** Sevilla, 21 de julio de 2021.

**DEPARTAMENTO:** Microbiología y Parasitología.

**TUTORA:** María del Carmen Márquez Marcos.

**TIPOLOGÍA DEL PROYECTO:** Bibliográfico.

## **RESUMEN**

**Introducción:** El virus del Nilo Occidental (VNO) es un arbovirus que se transmite de aves a mamíferos, principalmente humanos y caballos, a través de mosquitos. En los seres humanos, el VNO puede producir desde infecciones asintomáticas hasta una enfermedad neuroinvasiva (meningitis, encefalitis, parálisis flácida) que, aunque se desarrolla en muy pocos casos, puede ser mortal o dejar graves secuelas neurológicas. En España, hasta 2019 sólo se habían detectado algunos casos esporádicos de infecciones humanas por VNO, pero en agosto del 2020 se produjo un aumento considerable en el número de casos, algunos de ellos mortales, que afectaron principalmente a las provincias de Sevilla y Cádiz e hicieron saltar las alarmas sanitarias. El **objetivo** general del trabajo ha sido realizar una revisión bibliográfica sobre este último brote. **Metodología:** la principal base de datos utilizada ha sido *PubMed*, también se han consultado páginas webs oficiales relacionadas con este virus y con los casos de infecciones humanas notificados en España. **Resultados y Discusión:** el brote causado por el VNO en España el año pasado registró un total de 77 casos de meningoencefalitis en humanos, de los que 8 tuvieron un desenlace fatal. Todos los casos estudiados fueron causados por el linaje 1 del virus. La provincia de Sevilla y más concretamente, dos municipios de la riera del Guadalquivir, Coria del Río y La Puebla del Río, fueron los más afectados. La especie de mosquitos predominante en las zonas afectadas durante esa temporada fue *Culex perexiguus*. **Conclusiones:** actualmente no existen medicamentos antivirales específicos ni vacunas para humanos, por lo que las únicas medidas de control frente a este virus se basan en la vigilancia epidemiológica y la detección precoz de casos, tanto en animales como en humanos.

**Palabras clave:** VNO, *Flavivirus*, Arbovirus, Epidemiología, Fiebre del Nilo Occidental.

## **ÍNDICE**

1.	INTRODUCCIÓN .....	1
2.	OBJETIVOS .....	1
3.	METODOLOGÍA.....	2
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	3
4.1.	Historia del VNO.....	3
4.2.	Características generales: estructura y genoma del VNO.....	4
4.3.	Taxonomía y linajes.....	6
4.4.	Ciclo de vida .....	8
4.5.	Transmisión y vectores.....	9
4.5.1.	Tipos de hospedadores .....	9
4.5.2.	Proceso de transmisión.....	11
4.6.	Acción patógena.....	13
4.7.	Cuadro clínico.....	15
4.8.	Diagnóstico.....	19
4.8.1.	Diagnóstico de los casos detectados en España .....	21
4.9.	Tratamiento.....	22
4.10.	Profilaxis .....	26
5.	CONCLUSIONES .....	29
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	30

## **1. INTRODUCCIÓN**

El VNO es un patógeno que se transmite al hombre desde su reservorio animal (las aves) por la picadura de mosquitos. El hombre y algunos animales, especialmente los caballos, se consideran hospedadores sin salida, por lo que no contribuyen a la propagación de la enfermedad. En España, la infección por este virus en humanos se había notificado en varias ocasiones, de forma esporádica; sin embargo, durante el verano del 2020 la situación epidemiológica de este virus se agravó respecto a años anteriores, dando lugar a un brote sin precedentes en nuestro país, que afectó a cerca de 80 personas, la mayoría de ellas de Andalucía, y provocó 8 muertes.

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Grado ha sido realizar una revisión bibliográfica sobre el brote causado por el VNO en España el año pasado.

Para el cumplimiento de este propósito, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Analizar las características generales y estructurales del VNO, su ciclo de vida y patogenia, así como los diversos cuadros clínicos que provoca en el ser humano.
- Describir los mecanismos de transmisión del VNO entre sus distintos tipos de hospedadores, identificando las técnicas existentes para su diagnóstico.
- Revisar el número de casos diagnosticados de VNO en España en dicho año, examinando su distribución geográfica, etaria y sexual.
- Detallar los tratamientos en investigación y las medidas de prevención contra el VNO, especialmente las vacunas que se encuentran actualmente en fase de estudio.

### 3. METODOLOGÍA

Para la realización de la presente revisión bibliográfica se han empleado diferentes fuentes de conocimiento.

En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda de información global acerca del VNO y sus aspectos generales en bases de datos como Dialnet, Scielo, MedLinePlus, Viruses y, sobre todo, Pubmed. En esta última, inicialmente se utilizó las palabras clave “West Nile virus”, para lo cual se obtuvo 8.161 resultados. Ante la ingente cantidad de resultados referentes al tema, se decidió acotar la búsqueda empleando filtros como “Publicaciones de los últimos 5 años” y “Texto completo gratis”, tras lo cual se obtuvo 1.311 resultados. De todas ellas se eligieron algunas revisiones lo más actualizadas posibles, para obtener una visión general sobre este virus.

A continuación, se realizó una búsqueda más profunda, indagando de una forma más concreta mediante el uso de palabras clave que acompañaban a “West Nile virus” como “structure”, “genome”, “history”, “epidemiology”, “Spain”, “lineage”, “cycle of life”, “transmission”, “vector”, “pathogenesis”, “clinical”, “symptoms”, “diagnosis”, “treatment”, “prevention”, “control” y “vaccine”. De esta forma, se halló una información más precisa y detallada sobre el virus y la infección provocada por el mismo, su historia, epidemiología, taxonomía, ciclo de vida, modos de transmisión, acción patógena, cuadro clínico, tratamiento y profilaxis.

Para completar el trabajo, adicionalmente se han utilizado páginas web como las del “National Center for Biotechnology Information (NCBI)” para especificar la clasificación taxonómica de forma exhaustiva del virus, “ViralZone” para conocer sus aspectos estructurales, “Organización Mundial de la Salud (OMS)”, “Asociación Española de Pediatría (AEP)” y “Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)” para obtener información actualizada sobre otros aspectos, como epidemiología y distribución, aspectos clínicos, tratamiento y prevención.

Se precisó la ayuda de traductores online como “Word Reference: <https://www.wordreference.com/es/translation.asp>” y “Traductor Reverso: [https://www.reverso.net/text\\_translation.aspx?lang=ES](https://www.reverso.net/text_translation.aspx?lang=ES)” para aquellos artículos y revisiones bibliográficas encontrados en inglés.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Historia del VNO**

El virus del Nilo Occidental (VNO) fue aislado por primera vez en Uganda, en 1937, por Smithburn y su equipo mientras buscaban una posible causa de la enfermedad del sueño en la zona oeste del Nilo. Al investigar el suero de una mujer que padecía un estado febril, hallaron este virus que presentaba estrechas similitudes con otro flavivirus, el virus de la fiebre amarilla (Corrales-Aguilar, 2014).

En Europa, los primeros casos de infecciones por este virus se detectaron en humanos y en caballos en las décadas de 1950 y 1960. Actualmente el VNO está presente en todos los continentes, excluyendo la Antártida, principalmente en zonas templadas de Europa, Oriente Medio y América del Norte, donde ocurren brotes cada vez con mayor frecuencia y de mayor importancia epidemiológica, constituyendo un problema de salud pública (Habarugira et al., 2020b).

En España, la circulación del VNO es conocida desde hace dos décadas. El primer caso de infección humana por este virus se detectó en Barcelona, en una persona que probablemente había estado expuesta al virus en el año 2004, en Badajoz. Posteriormente se detectaron 2 casos en 2010 en Andalucía, en los municipios de Chiclana de la Frontera y Benalup-Casas Viejas (Cádiz) y 3 casos, en 2016, en La Puebla del Río y Coria del Río (Sevilla). Desde 2017 a 2019, si bien se describieron algunos brotes en caballos, no se notificó ningún caso en la población humana.

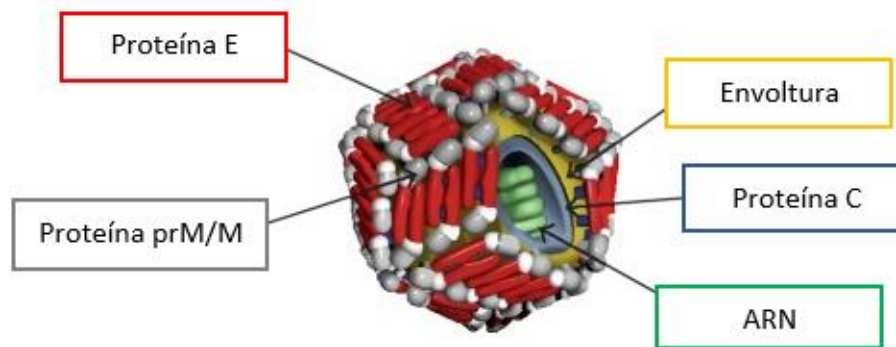
Tras estos años sin casos en humanos, el 6 de agosto de 2020 se diagnosticaron en la provincia de Sevilla 5 casos de meningoencefalitis linfocitarias, sin etiología conocida en ese momento, que hicieron sospechar de un origen común. Todas las personas afectadas residían en Coria del Río y La Puebla del Río, municipios situados en las proximidades de las marismas del Guadalquivir, donde existen grandes extensiones de arrozales. Cinco días más tarde, el 11 de agosto, había notificados un total de 15 casos, 4 de ellos ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos. A pesar de que las autoridades sanitarias regionales implantaron rápidamente medidas de control en las zonas afectadas, el 11 de septiembre se confirmaron varios casos en la comarca de la Janda (Cádiz), y el 22 de septiembre se diagnosticó otro caso en la provincia de Badajoz.



Los últimos datos publicados por el Centro Nacional de Epidemiología (CNE), el 3 de diciembre de 2020, registran un total de 77 casos humanos de meningoencefalitis por VNO: 71 casos corresponden a Andalucía (57 en Sevilla y 14 en Cádiz) y 6 a Extremadura (todos en Badajoz) (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

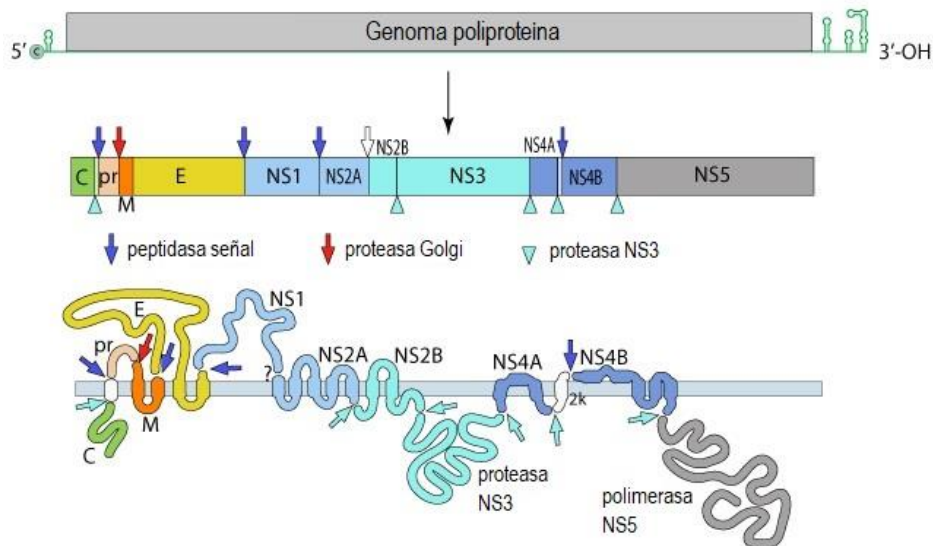
#### 4.2. Características generales: estructura y genoma del VNO

El virus del Nilo Occidental es un tipo de arbovirus o virus transmitido por artrópodos, miembro de la familia *Flaviviridae*, esférico, de unos 50 nm de diámetro, que presenta una cápside icosaédrica y un genoma de ARN monocatenario. Esta nucleocápside está rodeada por una envoltura lipídica con glucoproteínas transmembranales y periféricas adheridas fuertemente a ella (Pierson y Diamond, 2020) (Figura 1).



**Figura 1.** Estructura del VNO (adaptado de Chancey et al., 2015).

El material genético está compuesto por una cadena simple lineal de ARN con polaridad positiva, la cual está formada aproximadamente por unas 11 kilobases. Este genoma codifica una única poliproteína que termina siendo escindida en 10 proteínas, 3 estructurales: la glucoproteína E o “de la envoltura”, la proteína M o “de membrana” (la cual proviene de su precursor prM) y la proteína C o “del core o cápside”, y 7 proteínas no estructurales: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5 (Tan et al., 2020). El orden de dichas proteínas es C-prM(M)-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5 y en su hidrólisis intervienen peptidasas señal, proteasas del complejo de Golgi y la proteasa NS3 (Figura 2).



**Figura 2.** Estructura y organización del genoma del VNO (adaptado de ViralZone: <https://viralzone.expasy.org/24>).

Respecto a las proteínas estructurales, se tratan de 3 tipos de proteínas que forman parte de la estructura vírica:

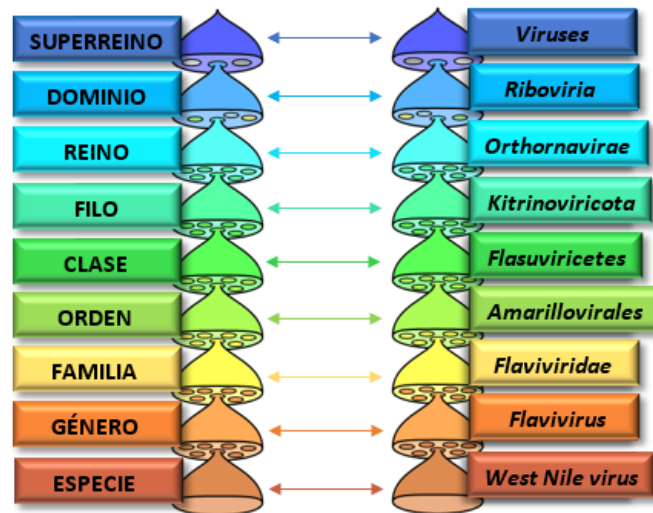
- Proteína C o “del core”, se encuentra en la parte interna del virus y su función es constituir la nucleocápside y participar en el proceso del ensamblaje del virus (Tan et al., 2020).
- Proteína M o “de membrana”, glucoproteína transmembranal que está insertada en la envoltura lipídica confiriéndole estabilidad. Procede de su precursor prM que se transforma en la proteína M cuando es hidrolizada por una proteasa celular denominada furina (Pierson y Diamond, 2012).
- Glucoproteína E o “de la envoltura”, es la proteína más superficial; aparece anclada en la envoltura y es responsable de numerosas funciones como la interacción y unión con receptores, la invasión celular, la fusión de membranas, la hemaglutinación y el ensamblaje de los viriones, entre otras. Es la proteína más importante desde el punto de vista inmunológico, puesto que posee los sitios antigénicos de los viriones (Kuhn et al., 2002).

En cuanto a las proteínas no estructurales, son un conjunto de 7 proteínas, cada una con funciones diferentes.

- La glucoproteína NS1 cuenta con 12 cisteínas que forman puentes disulfuros imprescindibles para la viabilidad del virus. A pesar de pertenecer al grupo de proteínas no estructurales, es una de las proteínas más variables del virus. En su forma intracelular funciona como cofactor de la replicación viral. Según estudios en animales, existe una relación lineal entre NS1 circulante y la gravedad de la infección (Rastogi et al., 2016).
- NS2A y NS2B son dos proteínas hidrofóbicas. En el caso de NS2A, se piensa que puede estar involucrada en el proceso de replicación del ARN vírico y en el ensamblaje de genomas (Khromykh et al., 2001). Por su parte, NS2B actúa como cofactor de NS3, formando un complejo serín-proteasa (Okamoto et al., 2017).
- La enzima NS3 se caracteriza por presentar una función triple: proteasa, trifosfatasa y helicasa. Su actividad proteasa radica en que interviene en la lisis de la poliproteína codificada cuando se encuentra en forma de complejo serín-proteasa, gracias a la presencia de su cofactor NS2B. Su actividad trifosfatasa (NTPasa) se atribuye a que participa en la síntesis del ARN junto a la proteína NS5. Por último, su actividad helicasa reside en que colabora en el proceso de la apoptosis (Tay y Vasudevan, 2018).
- Otras dos proteínas hidrofóbicas son NS4A y NS4B. Se piensa que la primera de ellas parece estar relacionada con la evasión del sistema inmunitario y que podría actuar como cofactor en la regulación de la actividad helicasa de NS3 (Shiryayev et al., 2009), mientras que NS4B intervendría en la replicación del virus (Zou et al., 2014).
- La proteína NS5 ejerce una doble función: replicasa (ARN polimerasa dependiente de ARN) y metiltransferasa en el extremo amino terminal (Tay y Vasudevan, 2018).

#### **4.3. Taxonomía y linajes**

El VNO pertenece al género *Flavivirus*, dentro de la familia *Flaviviridae* (Figura 3) (NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=11082&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>).



**Figura 3.** Clasificación taxonómica del VNO.

Múltiples estudios basados en el aislamiento y/o detección de numerosas cepas del VNO, a través de la secuenciación genómica de su ARN, revelan la existencia de hasta 7 (ó 9 para otros autores) linajes diferentes del VNO. Pese a ello, los que merecen especial atención por su distribución geográfica, factor epidemiológico y mayor virulencia son los linajes 1 y 2.

El linaje 1 se subdivide en tres clados o sublinajes: clado 1a (el más extendido globalmente, sobre todo por África, Europa, Oriente Medio y América), clado 1b (son las cepas Kunjin, distribuidas por regiones de Oceanía) y clado 1c (aislado únicamente en India) (Rizzoli et al., 2015; Habarugira et al., 2020b).

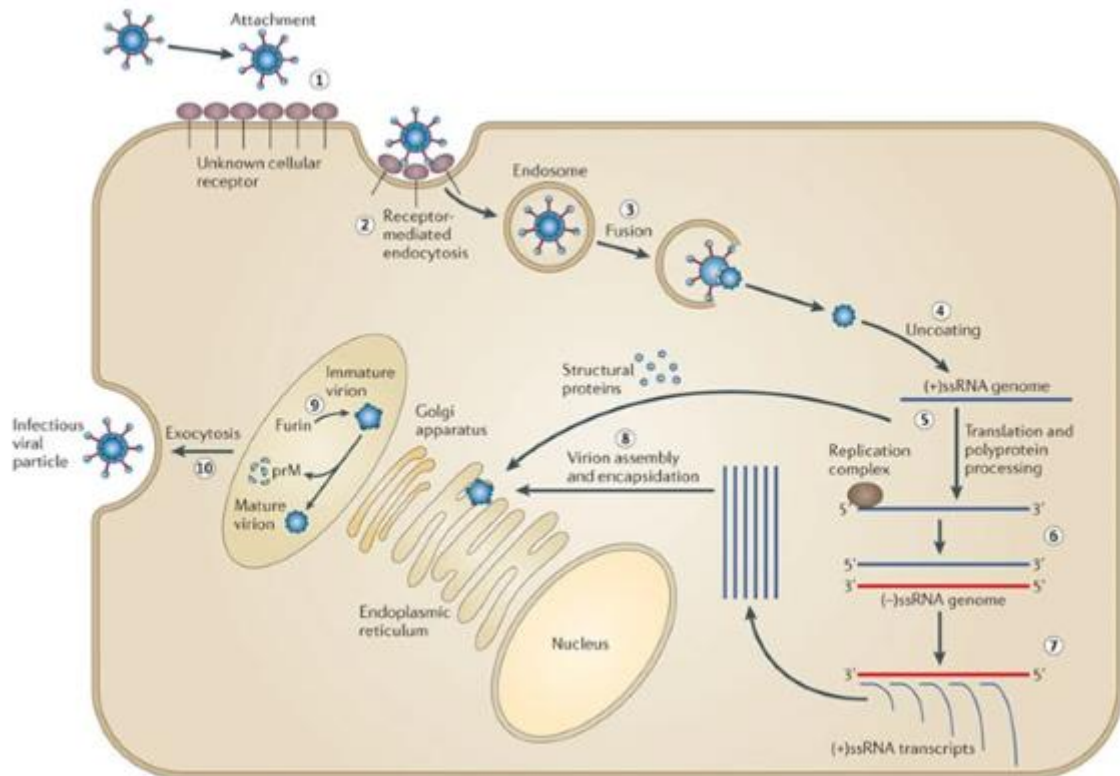
Por su parte, el linaje 2 del VNO, se descubrió por primera vez en Europa, en el año 2004, concretamente en Hungría, cuando se aisló del cerebro de un azor común (*Accipiter gentiles*). El primer brote a gran escala de este linaje en Europa se produjo en Grecia en 2010 (Chaintoutis et al., 2019). Actualmente, este linaje 2 del VNO se encuentra extendido principalmente por el suroeste europeo y por la península balcánica, además de por África subsahariana (Christova et al., 2020).

En los casos humanos detectados en España, las secuencias obtenidas hasta ahora han mostrado que el linaje 1 es el predominante, aunque durante este último año se ha detectado la presencia del linaje 2 en azores comunes que se encontraron muertos en las localidades de Alpicat (Lleida), Riudoms y Vyniols i els Arcs (Tarragona), lo que

confirma la presencia de este linaje en nuestro país (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

#### 4.4. Ciclo de vida

El ciclo de vida del VNO se puede observar de forma esquemática en la figura 4.



**Figura 4.** Ciclo de vida del VNO (Suthar et al., 2013).

Tras la inoculación del virus en el hospedador, lo primero que ocurre es su adhesión (paso 1), por medio de su proteína E, a estructuras de glicosaminoglicanos, manosa y DC-SIGN presentes en los receptores de la superficie celular, los cuales no se conocen aún con precisión (Colpitts et al., 2012). El virus penetra en la célula por endocitosis mediada por receptores como clatrina (paso 2), formándose el endosoma. En su interior existe un ambiente de pH bajo que desencadena un cambio conformacional de la glucoproteína E que procede a la fusión de la membrana del virus con la membrana del endosoma y la posterior liberación de la nucleocápside en el citoplasma de la célula (paso 3) (Carro y Cherry, 2021).

Una vez en el citoplasma, se produce la descapsidación, quedando libre el ARN (paso 4). Este genoma sirve posteriormente como molde de traducción y procesamiento de la poliproteína viral en las membranas intracelulares (paso 5), la cual da lugar a las diferentes proteínas estructurales y no estructurales mencionadas con anterioridad, además de servir como molde de replicación (Gerold et al., 2017). En la lisis de la poliproteína viral intervienen las proteínas NS2B con su cofactor NS3 y proteasas celulares, mientras que en la replicación vírica intervienen las proteínas NS1, NS2A, NS3, NS4B y NS5 (ARN polimerasa dependiente de ARN).

Por su parte, el complejo de replicación actúa sobre el ARN viral inicial, originando una cadena simple lineal de ARN con polaridad negativa (paso 6), la cual sirve de molde para transcribir las nuevas cadenas simples lineales de ARN con polaridad positiva (paso 7). A continuación, la proteína C se encarga del ensamblaje de estas cadenas de ARN con las proteínas estructurales E y prM en las membranas del retículo endoplásmico rugoso (paso 8), dando lugar a los nuevos viriones inmaduros (Colpitts et al., 2012).

Estos viriones son transportados a través de la vía secretora del hospedador, por el complejo de Golgi, lo que conlleva la glicosilación de la proteína E. Conjuntamente, la proteasa celular furina escinde la proteína prM, originándose los viriones maduros (paso 9) que viajan por el citoplasma en vesículas exocíticas hasta el exterior de la célula, atravesando la membrana plasmática por exocitosis (paso 10). En este momento, las nuevas partículas virales infecciosas quedan libres en el exterior celular (Suthar et al., 2013).

#### **4.5. Transmisión y vectores**

La transmisión del VNO comprende dos ciclos en los que están involucrados diversos tipos de hospedadores, los cuales ejercen diferentes funciones: vectores, reservorios y hospedadores sin salida.

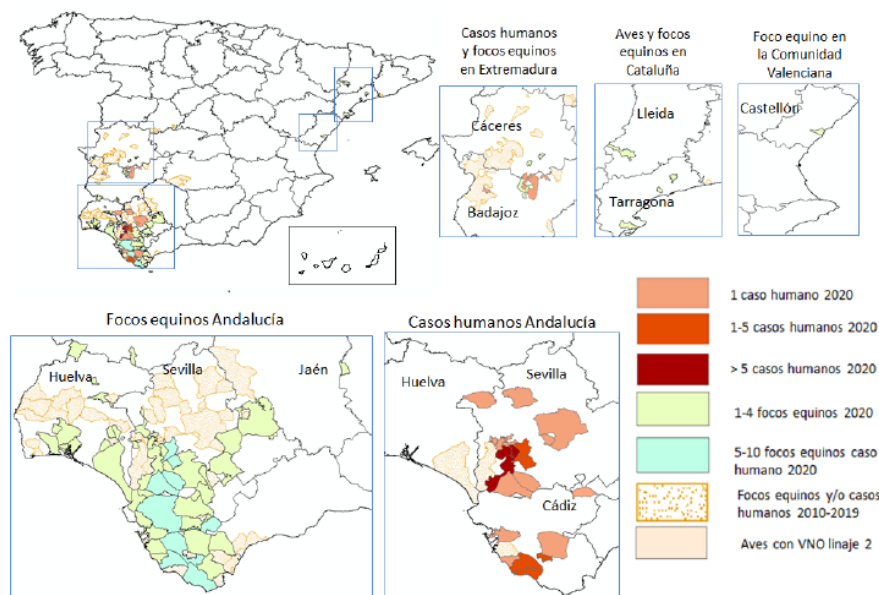
##### **4.5.1. Tipos de hospedadores**

- **Vectores:** según la OMS se definen como “organismos vivos que pueden transmitir patógenos infecciosos entre personas, o de animales a personas”. Los vectores responsables de la infección por VNO en España son las hembras de mosquitos hematófagos del género *Culex* spp., en especial *C. perexiguus* y *C.*

*pipiens*. Unos meses antes del mes de agosto de 2020, fecha en que surgieron los primeros casos de infección humana por el VNO, la Estación Biológica de Doñana había dirigido un estudio en lotes de mosquitos capturados en distintas localidades de Huelva y Sevilla, en el que se observó una densidad de mosquitos de la especie *C. perexiguus* muy superior a la detectada en años anteriores. Cuando se produjo el aumento de la incidencia de casos humanos, se analizaron de forma retrospectiva dichos lotes de mosquitos, que se conservaban congelados, y se observó una elevada presencia del VNO en 16 lotes de *C. perexiguus* y en 1 lote de *C. pipiens*. Estos mosquitos habían sido capturados en los municipios de La Puebla, Coria y Palomares del Río (Sevilla) y de Gibraleón (Huelva) (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

- Reservorios: se pueden definir como el lugar o ser vivo donde el virus permanece viable y a partir de los cuales se puede producir una infección. En este caso, el reservorio animal lo constituyen las aves. Asimismo, suponen un riesgo fundamental para los hospedadores sin salida, ya que además funcionan como hospedadores amplificadores del virus y fuente de infección (Vidaña et al., 2020). En España, desde agosto de 2020, la vigilancia pasiva en aves silvestres ha permitido detectar 10 casos de infección por VNO mediante PCR, 7 de las cuales presentaban el linaje 1: 4 en Jerez de la Frontera (Cádiz), 2 en La Puebla del Río y 1 en Andújar (Jaén). Gracias a esta vigilancia también se detectó en el mismo año el linaje 2 en los azores comunes hallados muertos en las localidades de Alpicat y Ruidoms y Vyniols i els Arcs. Cabe destacar que el linaje 2 del VNO fue observado por primera vez en España en septiembre de 2017, detectado en un azor común en una zona urbana de Lleida (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).
- Hospedadores sin salida o accidentales: se entiende como aquel huésped que no cumple los requisitos para mantener el ciclo de vida del virus y su posterior transmisión a otro vector, pero al que el virus puede infectar y producirle sintomatología. Esto es debido a que el bajo nivel de viremia sérica en dicho hospedador sin salida imposibilita la transmisión a otro vector. A este grupo pertenecen los seres humanos, los caballos y otros animales susceptibles de ser infectados por el VNO (Assaid et al., 2020). Excepcionalmente, cabe mencionar

el caso de algunas especies de cocodrilos y caimanes, que se consideran hospedadores amplificadores (Habarugira et al., 2020a). Actualmente, hasta finales de noviembre, en España, se han notificado al CNE 77 casos de enfermedad humana por VNO (40 confirmados y 37 probables): 71 casos pertenecen a Andalucía (57 en Sevilla y 14 en Cádiz) y los 6 restantes a Extremadura (Badajoz). Respecto a los casos de Sevilla, 24 de ellos se dieron en Coria del Río (42,1%) y 14 en La Puebla del Río (24,6%), sumando entre ambos 38 casos totales (66,7%) en la provincia sevillana. Además, la vigilancia pasiva y activa permitió detectar 139 focos equinos hasta la misma fecha, principalmente en Andalucía (125): Sevilla (58), Cádiz (49), Huelva (17) y Jaén (1); en Extremadura (7): Badajoz (5) y Cáceres (2); en Cataluña (6): Lleida (2) y Tarragona (4); y 1 en Castellón (Valencia). También se han detectado los primeros focos en Tarragona, Jaén y Castellón (Figura 5) (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

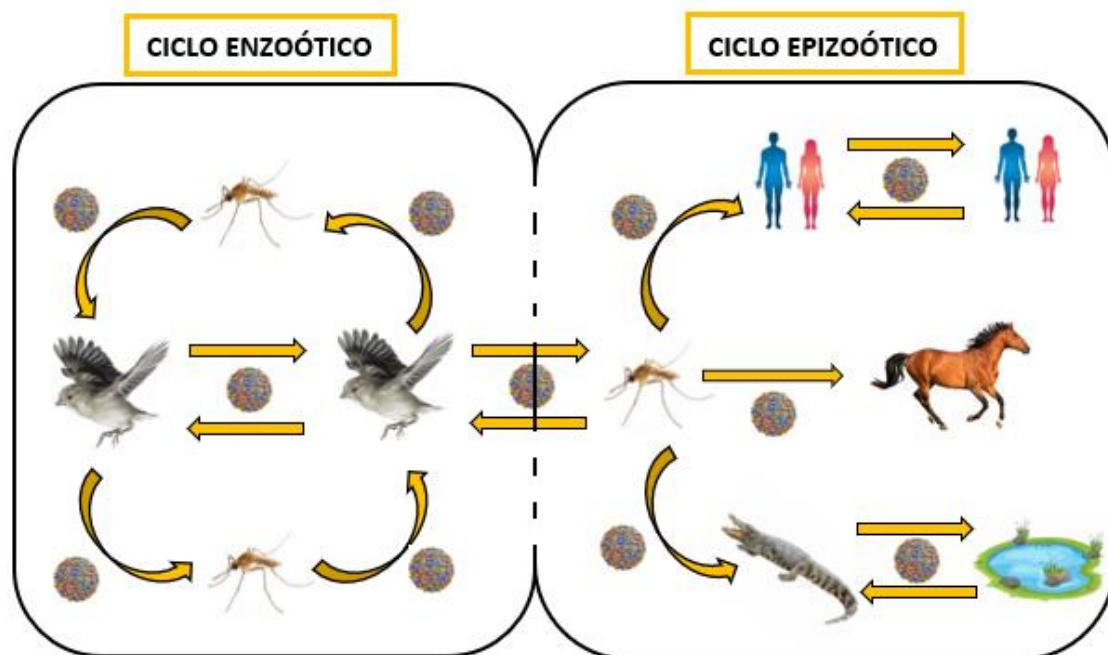


**Figura 5.** Áreas de España con casos humanos, focos equinos y aves infectadas por VNO en España (2010-2020) (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

#### 4.5.2. Proceso de transmisión

Como se puede observar en la figura 6, la transmisión del VNO se puede diferenciar en dos ciclos principales: el ciclo enzoótico y el ciclo epizoótico.





**Figura 6.** Ciclos de transmisión del VNO.

- Ciclo enzoótico o rural: consiste en la transmisión del virus entre las diferentes especies de aves, a través de la picadura de un mosquito hembra o por vía directa entre las aves por vía oral, a través del consumo de carroña o de presas infectadas (Vidaña et al., 2020).
- Ciclo epizoótico o urbano: se da cuando un mosquito hembra, vector del VNO, infecta a:
  - Humanos: además de por la picadura de un mosquito, el VNO puede ser transmitido de un ser humano a otro por transfusiones de sangre, hemodiálisis, trasplante de órganos y por vía vertical intrauterina o a través de la lactancia (Cardinale et al., 2017).
  - Ganado equino y otros vertebrados: los caballos son los animales más susceptibles de contraer infección por el VNO, habitualmente por la picadura de un mosquito hembra hematófago, aunque también se ha descrito un caso de transmisión transplacentaria en una yegua de Sudáfrica (Venter et al., 2011). Los caballos actúan como hospedadores sin salida, al igual que otros vertebrados como gatos, roedores, ovejas, elefantes, rinocerontes, leopardos y muchos otros que también han

demostrado ser susceptibles a dicha infección (van der Meulen et al., 2005).

- Caimanes y especies de cocodrilos: requieren una mención aparte, dado que se ha demostrado la posibilidad de infección de estos animales a través del agua contaminada con VNO, además de que actúan como hospedadores amplificadores (Habarugira et al., 2020a).

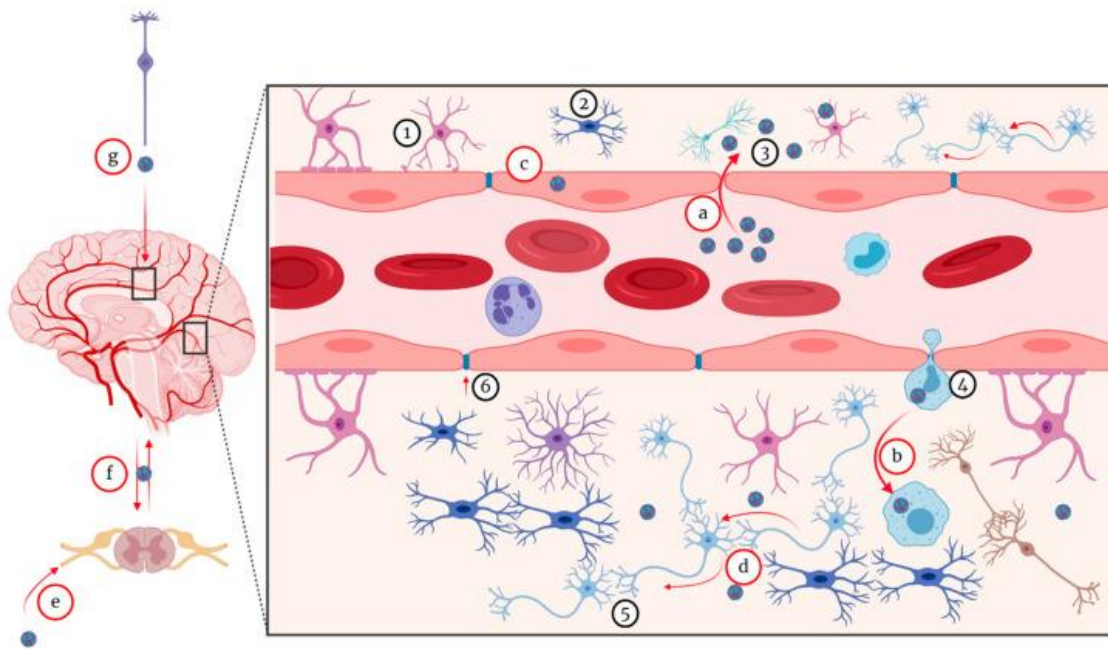
La conexión entre ambos ciclos se observa cuando una hembra de mosquito, que previamente se ha infectado al tomar sangre de un ave reservorio infectada por VNO, sale de dicho ciclo enzoótico y consigue picar a alguno de los hospedadores pertenecientes al ciclo epizoótico (Habarugira et al., 2020b).

Curiosamente, el cambio climático incentiva la transmisión del VNO. Se demostró que la temperatura, las precipitaciones excesivas (inundaciones) o escasas (sequía), la humedad relativa y el viento generalmente propician la transmisión del virus al beneficiar principalmente a los vectores en cuanto a su desarrollo en aguas estancadas, su crecimiento, multiplicación y transporte por el viento, pero también al virus en sí (las altas temperaturas incrementan las tasas de replicación viral) (Paz, 2015).

#### **4.6. Acción patógena**

La acción patógena del VNO comienza con la entrada del virus en un nuevo hospedador a través de la saliva emitida por medio de la picadura de su vector, en cuyas glándulas salivales se encuentra el virus. Inicialmente, las células diana a las que infecta son los queratinocitos y las células de Langerhans (representantes de las células dendríticas) de la epidermis. Las proteínas salivales del vector tienen la capacidad de neutralizar respuestas hemostáticas de su huésped; entre ellas, llevan a cabo la supresión local de la respuesta inmunitaria en el sitio de la inoculación (suprime la producción de IL-2 e/o INF- $\gamma$ , según el vector), aumentando la replicación local del virus (Briant et al., 2014). Adicionalmente, se ha demostrado que el receptor de reconocimiento de patógenos TLR-7 en los queratinocitos se activa tras la infección cutánea, con el consiguiente aumento de los niveles de INF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12, lo cual promueve la migración de las células de Langerhans hacia el sistema de ganglios linfáticos de drenaje (Welte et al., 2009).

Mientras que las células infectadas y los restos de partículas virales van siendo eliminadas por los macrófagos, el virus sigue replicándose en las células de Langerhans de los ganglios linfáticos. Desde ellos, el virus se disemina por vía hematogena a diferentes órganos periféricos como el bazo, riñones, estómago, intestino o la piel y también alcanza el SNC por diferentes mecanismos propuestos (Luo y Wang, 2018) que se explican a continuación y se pueden observar en la figura 7.



**Figura 7.** Mecanismos neuroinvasores del VNO. (1) Astrocito, (2) microglía, (3) partículas de VNO, (4) macrófagos transmigrantes, (5) neurona motora, (6) unión estrecha de la barrera hematoencefálica (BHE) (Habarugira et al., 2020b).

- Difusión pasiva del VNO (a): el virus atraviesa de forma pasiva la BHE debido al aumento de la permeabilidad vascular causado por un mecanismo trasudativo mediado por citoquinas (Petersen et al., 2013).
- Mecanismo "caballo de Troya" (b): los monocitos circulantes y los macrófagos tisulares infectados actúan como medio de transporte para el virus, consiguiendo atravesar la BHE y acceder al SNC. Principalmente es debido a la osteopontina (OPN), citoquina proinflamatoria, al reclutar la infiltración de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) infectados y facilitar la entrada del VNO (Paul et al., 2017).

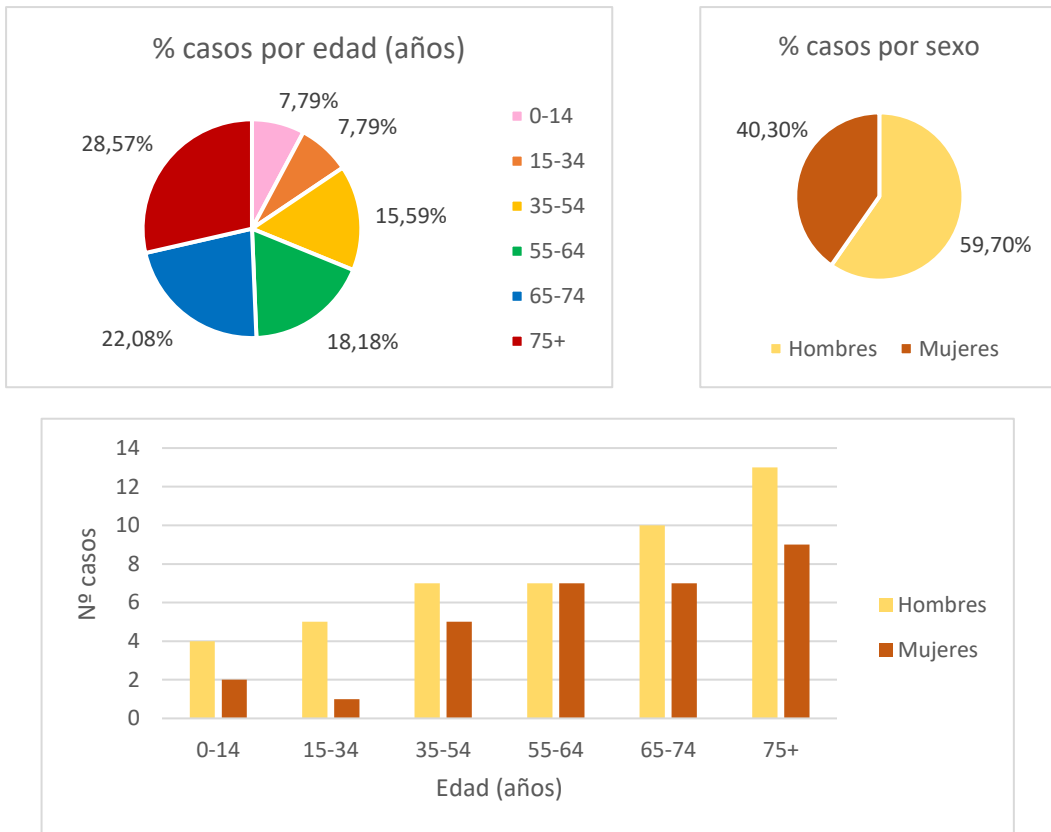
- Vía hematológica (c): el VNO presente en la sangre produce una infección directa del endotelio vascular y posterior invasión del SNC (Suen et al., 2014).
- Mecanismo transneuronal (d): sugiere el transporte axonal retrógrado del virus a través de, o bien los nervios somáticos periféricos, o bien el nervio olfatorio, al SNC.

En la parte izquierda de la figura 7 se puede visualizar el paso del VNO a la médula espinal (e), el transporte del mismo de la médula espinal al cerebro y viceversa (f) y la neuroinvasión por mecanismo transneuronal a través del nervio olfatorio (par craneal I) (g) (Habarugira et al., 2020b).

#### **4.7. Cuadro clínico**

Según la OMS, aproximadamente el 80% de las personas infectadas por el VNO son asintomáticas, mientras que el 20% restantes son sintomáticas. No obstante, la sintomatología presenta variabilidad interindividual, manifestándose habitualmente como la fiebre del Nilo Occidental (FNO) o menos frecuentemente como afecciones graves (OMS: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus>).

Antes de comenzar con estas enfermedades, cabe mencionar algunos factores que influyen en la gravedad del cuadro clínico. Existen factores dependientes del hospedador como son la especie de hospedador (en esta revisión solo se trata el ser humano), la edad o el estado fisiológico; factores dependientes del virus como el tipo de cepa, el tropismo o la acción patógena; y otros factores como el clima y el medio ambiente (Habarugira et al., 2020b). De los 77 casos de infección humana notificados en España desde agosto hasta noviembre de 2020 (los últimos casos notificados son del 5 de noviembre), 31 fueron mujeres (40,3%) y 46 hombres (59,70%), siendo la mediana de edad de 65 años. La mayoría de los afectados fueron hombres mayores de 75 años (13 casos; 16,9%). En niños menores de 14 años se notificaron 6 casos (8,0%), mientras que 39 casos (50,6%) corresponden al grupo de 65 y más años (Figura 8) (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).



**Figura 8.** Número y porcentaje de casos distribuidos por grupo de edad y sexo hasta el 30 de noviembre de 2020 (adaptado de García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

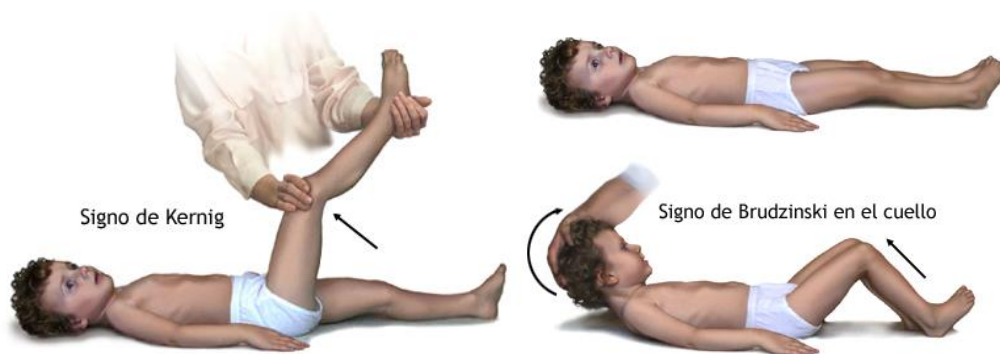
La FNO se caracteriza por ser una enfermedad leve con inicio abrupto cuyos síntomas más característicos son fiebre, dolor de cabeza, problemas gastrointestinales como náuseas y vómitos, erupción cutánea maculopapular (Figura 9), linfadenopatía, mialgia, artralgia, malestar y cansancio. El periodo de incubación del VNO es de 2-14 días y los síntomas pueden durar hasta una semana. La FNO es la forma más común entre individuos jóvenes (Byas y Ebel, 2020).



**Figura 9.** Erupción cutánea maculopapular provocada por el VNO (Sejvar, 2014).

En contraposición, las afecciones graves ocurren cuando el VNO invaden el SNC, provocando enfermedades neuroinvasivas del Nilo Occidental (ENNO) entre las que encontramos:

- Meningitis del Nilo Occidental (MNO): caracterizada principalmente por rigidez de la nuca, signos de Kernig (incapacidad para enderezar la pierna cuando se flexiona la cadera a 90° en posición decúbito supino provocada por cierta rigidez de los tendones de la corva) y/o Brudzinski (en posición decúbito supino, el paciente flexiona inconscientemente las rodillas y la cadera al flexionar el cuello debido a la rigidez severa de éste) (Figura 10) y fotofobia o fonofobia, acompañados de fiebre, dolor de cabeza y síntomas gastrointestinales que pueden provocar deshidratación. Generalmente, se asocia a un desenlace favorable de la enfermedad (Sejvar, 2014).



**Figura 10.** A la izquierda, signo de Kernig; a la derecha, signo de Brudzinski (Medline: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/19077.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19077.htm) y [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/19069.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19069.htm)).

- Encefalitis del Nilo Occidental (ENO): caracterizada generalmente por depresión o alteración de la conciencia, letargo y cambio de personalidad por más de 24 horas, que puede cursar desde un estado de confusión, dolor de cabeza y temblores hasta encefalopatía grave, coma y muerte. Puede combinarse con meningitis y presentarse como casos de meningoencefalitis. Es más común en personas mayores de 55 años e inmunodeprimidos (Alli et al., 2021).
- Poliomielitis del Nilo Occidental (PNO) y otras formas de parálisis flácida aguda (PFA): en la PNO el síntoma principal es la debilidad muscular, bien en forma de paresia (parcial), o bien en forma de parálisis (pérdida total de la potencia

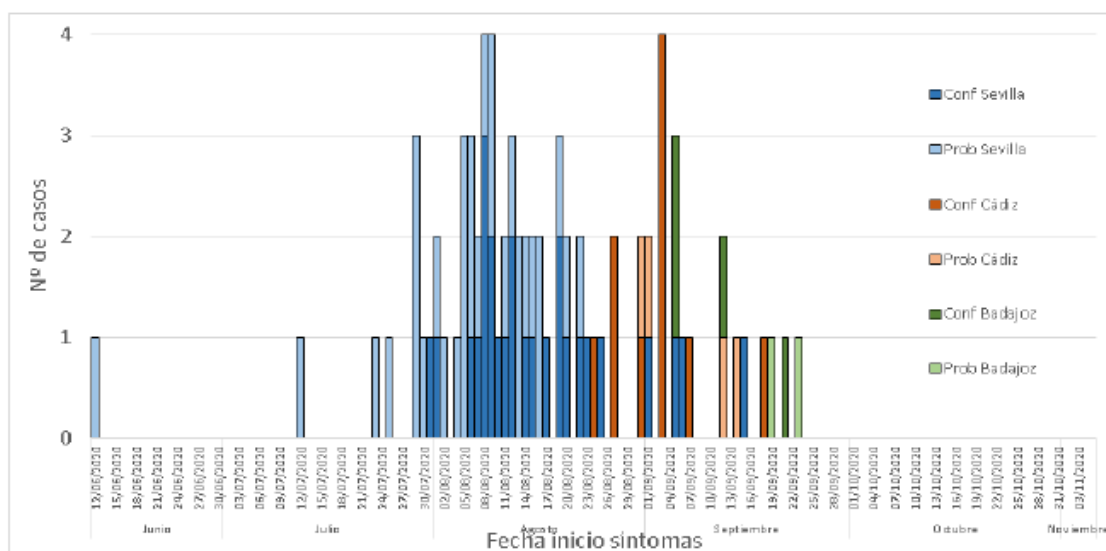
muscular). No obstante, su manifestación más grave es la insuficiencia respiratoria causada por la agresión a la inervación de los músculos respiratorios. Otras formas de PFA descritas son la radiculopatía y la forma polirradiculoneuropatía desmielinizante aguda del síndrome de Guillain-Barré (Sejvar, 2014).

En asociación con estas ENNO, se han descrito casos de manifestaciones oculares que acompañaban a estas enfermedades, tales como coriorretinitis multifocal bilateral de aspecto típico (la más frecuente), uveítis anterior, retinitis, vasculitis retiniana o neuropatía óptica (Rousseau et al., 2020).

Como se ha mencionado, el desenlace de la infección por el VNO puede ser desde la curación hasta la muerte. Entre ambos extremos, se encuentran secuelas de deterioro neurocognitivo o funcional, pérdidas de memoria, dolor de cabeza, depresión, ansiedad, disminución de la fuerza, reflejos anormales... y casos de infección persistente que puede conducir a enfermedad renal crónica por la afectación sistémica de los riñones (Byas y Ebel, 2020).

En el brote de España, basándose en la fecha del comienzo de la sintomatología, los diferentes casos detectados en Sevilla ocurrieron entre el 12/06/2020 (caso probable) y el 15/09/2020, los de Cádiz entre el 24/08/2020 y el 18/09/2020, mientras que los de Badajoz surgieron durante 19 días, desde el 05 al 23/09/2020. De todos esos casos, la mayoría ocurrieron en agosto (65,3%) y desde el 05/11/2020 no se volvió a notificar nuevos casos (Figura 11).

Por lo que respecta al cuadro clínico, 72 de los 77 casos totales (93,5%) resultaron ser ENNO, siendo 73 (94,8%) los que requirieron ingreso hospitalario; sólo 2 de ellos perduraron con secuelas neurológicas graves. Del total, fallecieron 8 personas (10,4%): 6 hombres y 2 mujeres de entre 59 y 87 años (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).



**Figura 11.** Número de casos confirmados (conf.) y probables (prob.) notificados al CNE en 2020 y fecha de inicio de sus síntomas (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

#### 4.8. Diagnóstico

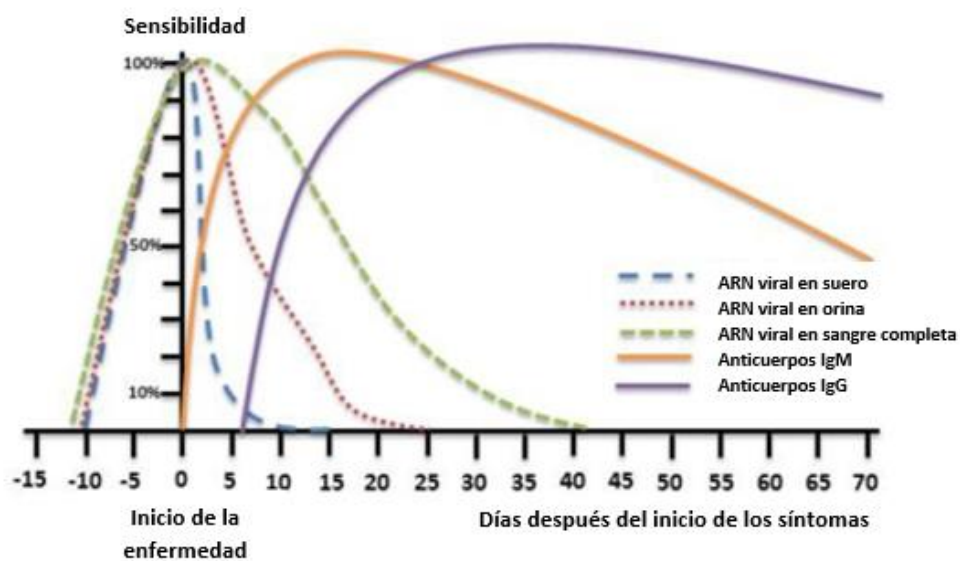
En primer lugar, cabe diferenciar la existencia de dos tipos de diagnósticos denominados diagnóstico clínico y diagnóstico de laboratorio.

El diagnóstico clínico se basa en la observación inicial de signos y síntomas clínicos del paciente sospechoso de infección por el VNO, como pueden ser fiebre aguda, problemas gastrointestinales, dolor de cabeza, manifestaciones oculares, mialgia y artralgia, linfadenopatía o erupción cutánea; o en el peor de los casos en el examen *post-mortem*. Para ello, hay que tener en cuenta la anamnesis del paciente para la recopilación de datos fundamentales como puede ser la procedencia del mismo para conocer si se trata de un área endémica o no, considerar aspectos ambientales y epidemiológicos, etc. No obstante, este tipo de diagnóstico puede resultar subjetivo y es necesario contrastar con pruebas diagnósticas de laboratorio (Habarugira et al., 2020b).

Por lo que respecta al diagnóstico de laboratorio, existen múltiples y diferentes métodos para la detección de la infección por el VNO. Según la OMS, los más utilizados son los siguientes:



- Detección del ARN viral en fluidos corporales mediante la reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (qRT-PCR): se puede llevar a cabo en muestras de sangre total, suero, líquido cefalorraquídeo (LCR), plasma y orina (Figura 12); obteniendo una mayor efectividad en sangre total. Como ventajas, encontramos sus altos niveles de repetibilidad y reproducibilidad, alta sensibilidad y especificidad, tiempo rápido de respuesta y su facilidad de uso. En contraposición, resulta tener un valor limitado dada la baja viremia de corta duración generada por el VNO (Lustig et al., 2018).



**Figura 12.** Representación teórica de la presencia de ARN del VNO en suero (línea discontinua azul), en orina (línea punteada roja) y en sangre total (línea discontinua verde). La línea naranja representa los niveles de IgM y la línea morada los niveles de IgG (adaptada de Lustig et al., 2018).

- Aislamiento del virus en cultivo celular: considerado el *gold standard* (estándar de oro, de mayor fiabilidad) para la detección del VNO a partir de muestras biológicas como sangre total, suero, LCR o tejidos (especialmente del SNC). A pesar de ello, no se consigue a menudo porque el virus se elimina al inicio de la enfermedad. Además, es difícil de llevar a cabo, presenta bajo rendimiento y se requieren de instalaciones de contención de bioseguridad adecuadas (Sejvar, 2016).

- Captación de IgM mediante el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas o enzimoanálisis (ELISA): aunque pueden persistir más de un año, lo ideal es detectar las IgM entre 4 y 7 días posteriores a la exposición inicial. Para ello, se utilizan muestras de suero o LCR cuando los pacientes presentan síntomas y suelen tratarse de IgM específicas de prM/E y NS1. Los ELISA son rápidos, reproducibles y de menor coste que otros métodos (De Filette et al., 2012).
- Seroconversión de IgG (o un aumento significativo de los títulos de anticuerpos) en 2 muestras en serie, extraídas con un intervalo de 7 días, determinada mediante ELISA: los anticuerpos IgG suelen aparecer a partir del día 8 después del inicio de la sintomatología. De esta forma, la técnica de ELISA permite observar la aparición de IgG tras una semana o, en su caso, un aumento de los títulos de anticuerpos.
- Pruebas de neutralización: se trata de una técnica serológica que se utiliza para validar resultados previos, ya que determina la capacidad de los anticuerpos presentes en la muestra del paciente para neutralizar el virus y, por consiguiente, permite evaluar la eficiencia de neutralización anticuerpo-virus. Dentro de este tipo de pruebas, la más habitualmente utilizada es la neutralización por reducción en placa (*Plaque Reduction Neutralization Test*, PRNT). A pesar de su coste económico y humano y de su bajo rendimiento, presenta una elevada especificidad, ya que diferencia anticuerpos que actúan contra el VNO de otros que lo hacen frente a otros flavivirus (Lustig et al., 2018).

#### **4.8.1. Diagnóstico de los casos detectados en España**

En primera instancia, se realizaron cultivos y PCR multiplex como cribado para los principales patógenos causantes de meningitis linfocitarias (principalmente Enterovirus, virus del herpes simple, Citomegalovirus y virus de la varicela-zóster), resultando negativas. Posteriormente, se transfirieron muestras de LCR, suero y orina al centro de referencia virológico de Andalucía para su diagnóstico.

En su totalidad, 5 de los 40 casos confirmados (4 de Sevilla y 1 de Cádiz), identificados con posterioridad como linaje 1, fueron diagnosticados por detección del ARN viral en orina o LCR mediante qRT-PCR, mientras que los 35 casos restantes se diagnosticaron por detección de IgM en LCR. Por su parte, los 37 casos probables fueron

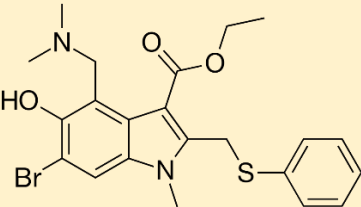
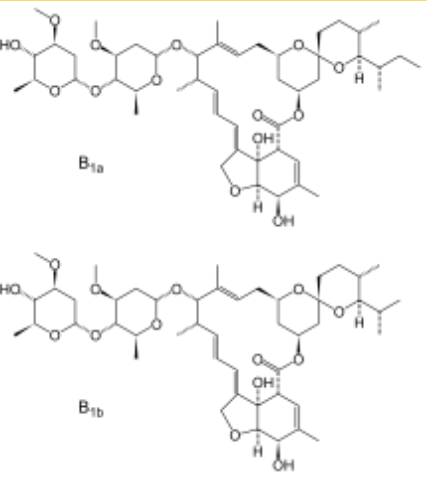
diagnosticados por serología positiva (IgM) en sangre o suero (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).

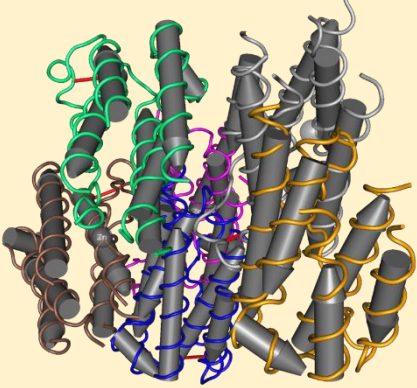
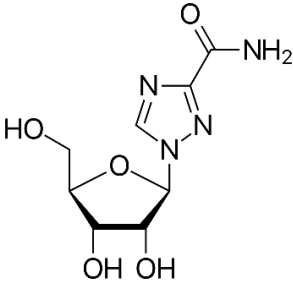
#### **4.9. Tratamiento**

Desafortunadamente, no existe ningún tratamiento antiviral específico contra la infección por VNO. Por lo tanto y según la OMS, el tratamiento de apoyo que puede realizarse en primera instancia es a base de analgésicos y antipiréticos para el alivio de los síntomas y la reducción de la fiebre. Los casos de ENNO requieren medidas de sostén como la hospitalización, administración de medicamentos líquidos intravenosos, soporte respiratorio y evitar la aparición de infecciones secundarias (OMS: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus>).

A pesar de que no se ha encontrado ningún fármaco específico, existen múltiples investigaciones para el abordaje terapéutico contra la infección por VNO, los cuales se muestran en la tabla 1. De ellos, los más estudiados actualmente son los 3 últimos: interferón- $\alpha$  (INF- $\alpha$ ), ribavirina e inmunoglobulinas intravenosas (IgIV).

**Tabla 1.** Características principales de los fármacos en investigación contra la infección por VNO.

COMPUESTO	MOLÉCULA Y ORIGEN	MODO DE ACCIÓN	RESULTADOS	TIPO DE ENSAYO	PERSPECTIVA FUTURA	REFERENCIA
<p><b>Arbidol (Umifenovir)</b></p>	 <p>Síntesis química</p>	<p>Intercalación en los lípidos de la membrana e inhibición de la fusión de membranas</p>	<p>Efecto antiviral fuertemente dependiente del tipo celular (positivo en células HBCA y Vero)</p> <p>Citotoxicidad dependiente de la línea celular (Huh-7 &lt;HBCA &lt;PS &lt;UKF-NB-4 &lt;Vero)<sup>1</sup></p>	<p><i>In vitro</i> estandarizados (células PS, HBCA, UKF-NB-4, Vero, Huh-7)</p>	<p>Ensayos <i>in vivo</i> en modelos animales infectados por VNO</p>	<p>Haviernik et al., 2018</p>
<p><b>Ivermectina</b></p>	 <p>Producida por la bacteria <i>Streptomyces avermitilis</i></p>	<p>Unión al heterodímero IMP-<math>\alpha</math>/<math>\beta</math>1 e inhibición de la función del transporte nuclear<sup>2</sup></p>	<p>Efecto antiviral que limita la infección por VNO</p>	<p><i>In vitro</i> en sistemas celulares infectados</p>	<p>Necesidad de ensayos <i>in vivo</i></p>	<p>Jans y Wagstaff, 2020</p>

<p><b>Interferón <math>\alpha</math></b> <b>(INF-<math>\alpha</math>)</b></p>		<p>Desencadena la incorporación de proteínas antivirales en los exosomas</p>	<p>Aumento de los niveles de ARNm que codifican proteínas antivirales en las vesículas extracelulares (VE) secretadas por células infectadas por VNO</p> <p>Aumento de los niveles de micro ARN que regula los genes del hospedador responsables de las interacciones virus-huésped, inflamación y respuesta inmune innata</p> <p>Presenta propiedades protectoras y limitantes de la encefalitis por el VNO</p>	<p><i>In vitro</i> en células de carcinoma alveolar humano A549</p> <p><i>In vivo</i>, con resultados cuestionables y no esclarecedores</p>	<p>Necesidad de más investigaciones <i>in vivo</i> y ensayos clínicos</p>	<p>Slonchak et al., 2019</p>
<p><b>Ribavarina</b></p>	 <p>Síntesis química</p>	<p>Análogo de guanosina que inhibe la inosina-5'-monofosfato (IMP) deshidrogenasa</p>	<p>Disminución de la tasa de replicación viral</p>	<p><i>In vitro</i> e <i>in vivo</i>, a dosis muy altas (por dificultad de alcance del tejido neurológico)</p>	<p>Necesidad de más estudios para saber si es verdaderamente útil contra la encefalitis</p>	<p>Alli et al., 2021</p>

<b>Inmunoglobulinas intravenosas (IgIV)</b>	 <ul style="list-style-type: none"> <li>• Procedente del plasma donado de pacientes supervivientes</li> <li>• Inmunoglobulinas farmacéuticas del Nilo Occidental (WNIG)</li> </ul>	<p>Interacción entre la Fc de IgG (IgG-Fc) y los receptores Fc (FcR) lo cual provoca un efecto antiinflamatorio, principalmente debido a los residuos de ácido siálico en el terminal IgG-Fc</p>	<p><b>Efecto antiinflamatorio</b></p> <p>Supervivencia en ratones con la administración de WNIG hasta 4 días tras la infección</p> <p>En humanos, resultados variables, desde mejoría y recuperación hasta no eficacia y muerte</p>	<p>Estudios en ratones y humanos</p>	<p>Necesidad de más estudios para verificar la eficacia y optimizar su utilidad</p>	<p>Alli et al., 2021</p>
---	---	--	---	--------------------------------------	---	--------------------------

<sup>1</sup>PS: células renales estables porcinas; UKF-NB-4: células de neuroblastoma humano; Huh-7: células de hepatoma humano; HBCA: astrocitos corticales de cerebro humano.

<sup>2</sup>IMP: importina.

#### 4.10. Profilaxis

Actualmente existen 4 vacunas veterinarias autorizadas para la prevención de la infección por el VNO en équidos. Tres de ellas están compuestas por virus inactivados completos y son WN Innovator™, Vetera™ WNV y Prestige® WNV; mientras que la cuarta, Recombitek™ Equine WNV, es una vacuna recombinante que utiliza el virus de la viruela del canario como vector del gen de la prM/E del VNO; tras su inoculación el vector no se multiplica en el caballo, pero expresa las proteínas protectoras. Todas estas vacunas requieren 2 dosis primarias y un refuerzo anual para que confieran protección a los caballos (Kaiser y Barret, 2019).

Si bien estas vacunas han mostrado una alta eficacia en caballos, hasta ahora no se ha conseguido desarrollar ninguna vacuna para los seres humanos (tampoco para aves). Al igual que existen múltiples investigaciones para un tratamiento antiviral específico, también hay numerosas investigaciones en proceso para el desarrollo de vacunas preventivas en seres humanos (tabla 2), las cuales persiguen objetivos definidos como amplia cobertura etaria (especialmente niños, ancianos e inmunodeprimidos), sólida seguridad y eficacia, a ser posible con una única dosis, que no produzca reacciones adversas graves, que sean fuertemente inmunogénicas y que proporcionen protección completa, con bajo coste y alta rentabilidad (Saiz, 2020).

Por esta razón, la única forma de disminuir la probabilidad y frecuencia de infección por el VNO en seres humanos es mediante la educación social con respecto a las medidas que pueden adoptar para reducir y evitar la exposición al virus, junto a la concienciación sobre los factores de riesgo y mecanismos de transmisión del virus.

En primer lugar, las medidas inmediatas para prevenir la transmisión por los mosquitos deben focalizarse en la protección personal y comunitaria contra las picaduras de los mismos mediante:

- el uso de insecticidas (tanto larvicidas como adulticidas) y repelentes de mosquitos, fumigaciones en zonas de focos vectoriales;
- mosquiteras en ventanas y balcones;
- ropa de largo y de color claro;

- reducción de las actividades al aire libre en las horas críticas (alba y ocaso) en las que abundan los mosquitos;
- refuerzo del sistema inmunológico a través de un estilo de vida saludable;
- eliminación de los criaderos de mosquitos tanto domésticos como naturales o artificiales, principalmente de aguas estancadas que constituyen un excelente caldo de cultivo para estos vectores;
- ropa protectora y guantes en aquellos ganaderos y veterinarios que trabajen con animales infectados, con las correctas medidas higiénico-sanitarias (Hongoh et al., 2016).

De esta forma, cabe destacar que este año ya se han iniciado planes activos de fumigación contra los vectores para prevenir las infecciones por VNO en las diferentes zonas de riesgo donde se detectaron casos el año pasado, por ejemplo, en La Puebla del Río desde el 5 de abril y desde el 11 de mayo en Coria del Río; las cuales se planean realizar hasta el mes de noviembre.

Adicionalmente, la reducción del riesgo de transmisión por transfusión sanguínea o trasplante de órganos debe intensificarse a medidas más eficaces y preventivas en el cribado de donantes como el fortalecimiento del cuestionario predonación, la entrevista médica y el examen físico del donante pre y postdonación sobre síntomas similares a los de la gripe, aun siendo leves; así como extremar las medidas sanitarias y la precaución del personal en el ámbito hospitalario (Velati et al., 2017).

Finalmente, la detección temprana de casos y áreas de transmisión es esencial para la implementación por parte de las autoridades sanitarias locales de medidas de prevención y control adecuadas. En España, se viene llevando a cabo un Plan de Vigilancia del VNO desde el año 2007, que contempla la vigilancia tanto de casos humanos como de mosquitos, aves y équidos. Este plan se activa desde finales de la primavera hasta finales del otoño, ya que la enfermedad tiene un marcado carácter estacional, coincidente con la época de actividad del mosquito. La vigilancia epidemiológica activa en humanos se inicia cuando se detecta la circulación del virus en los animales y/o en los mosquitos (García San Miguel Rodríguez-Alarcón et al., 2021).



**Tabla 2.** Candidatos vacunales contra el VNO.

VACUNA CANDIDATA	COMPOSICIÓN	ENSAYO CLÍNICO MÁS AVANZADO	POSOLOGÍA Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA
<b>Hydrovax-001</b>	Inactivado con peróxido de hidrógeno	Fase I	2 dosis con 4 semanas de diferencia Intramuscular	Anticuerpos neutralizantes en el 50% de los individuos después de dos dosis.	Woods et al., 2019
<b>VNO inactivado</b>	Inactivado con formaldehído	Fase I/II	2 dosis con 21 días de diferencia + 1 dosis de refuerzo el día 180 Intramuscular	Anticuerpos neutralizantes después de tres dosis.	Barrett et al., 2017
<b>ChimeriVax-WN02</b>	Cepa recombinante de la vacuna contra la fiebre amarilla que expresa el fragmento prM/E del VNO	Fase II	1 dosis Subcutánea	Anticuerpos neutralizantes (> 90%) en grupos de edades más jóvenes y mayores después de una dosis	Dayan et al., 2013
<b>rWN/DEN4Δ30</b>	Virus del dengue (DENV) recombinante atenuado que expresa el fragmento prM / E del VNO	Fase I	1 o 2 dosis (en principio se probó con 2, pero se obtuvo mejores resultados con 1 sola dosis) Subcutánea	Anticuerpos neutralizantes en el 89% de los individuos después de dos dosis.	Durbin et al., 2013
<b>HBV-002</b>	Proteína E truncada recombinante	Fase I	3 dosis con 4 semanas de diferencia Intramuscular	Anticuerpos neutralizantes en todos los individuos después de tres dosis	Lieberman et al., 2009; Collier et al., 2012
<b>VRC WNV</b>	Plásmido de ADN que expresa el fragmento prM/E	Fase I	3 dosis con 4 semanas de diferencia Intramuscular	Anticuerpos neutralizantes (> 90%) en grupos de edades más jóvenes y mayores después de tres dosis	Ledgerwood et al., 2011

## 5. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones extraídas tras la realización de la presente revisión bibliográfica son las siguientes:

- El VNO se trasmite a los seres humanos desde las aves, por la picadura de mosquitos, no siendo posible la transmisión entre humanos. En ellos, este virus puede causar desde infecciones asintomáticas, que es la que ocurre en la mayoría de los casos (80%), hasta una enfermedad neuroinvasiva que se desarrolla en menos del 1% de los casos, pero tiene una tasa de mortalidad de aproximadamente el 10%. El verano pasado este virus surgió en forma de brote en Andalucía Occidental y Extremadura, convirtiéndose en una amenaza de salud pública, humana y animal.
- El brote de meningoencefalitis por VNO surgido el año pasado afectó a 77 personas, 71 en Andalucía y 6 en Badajoz. De los 71 casos andaluces, 57 se notificaron en la provincia de Sevilla, especialmente en los municipios de Coria y Puebla del Río, y 14 casos correspondieron a la provincia de Cádiz. El 95% de los casos presentaron un cuadro clínico neurológico que precisó de su hospitalización. La incidencia de enfermedad neuroinvasiva fue mayor en varones (50,9%) y su gravedad aumentó con la edad. En este brote fallecieron 8 personas.
- La aparición de enfermedad en los seres humanos coincide con la época de actividad del mosquito por lo que en España el plan de vigilancia de estos vectores comienza a finales de la primavera y termina a finales de otoño; la vigilancia en humanos se inicia cuando se detecta circulación del virus en animales y/o en los mosquitos.
- El diagnóstico eficaz de la infección por el VNO requiere una historia detallada, incluida la posible exposición a mosquitos contaminados, así como pruebas serológicas (basadas en la detección de anticuerpos IgM en muestras de LCR) y virológicas sensibles (detección del ARN viral mediante qRT-PCR en muestras de orina o LCR).
- En la actualidad no se dispone de una terapia específica para el VNO y las vacunas están autorizadas solo para su uso en caballos. Si bien se han aplicado con éxito

varias metodologías para el desarrollo de vacunas para humanos, ninguna ha sido hasta el momento autorizada. Por todo ello, la vigilancia epidemiológica de los mosquitos circulantes y la detección precoz de la enfermedad en animales y en humanos, son en la actualidad las únicas medidas de control eficaces frente a este virus.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Alli A, Ortiz JF, Atoot A, Atoot A, Millhouse PW. Management of West Nile encephalitis: an uncommon complication of West Nile virus. *Cureus*. 2021; 13(2): e13183.
- Asociación Española de Pediatría. Fiebre del Nilo Occidental: una enfermedad que viene a quedarse [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://vacunasaep.org/profesionales/noticias/fiebre-nilo-occidental-viene-a-quedarse>.
- Assaid N, Mousson L, Moutailler S, Arich S, Akarid K, Monier M et al. Evidence of circulation of West Nile virus in *Culex pipiens* mosquitoes and horses in Morocco. *Acta Trop*. 2020; 205: 105414.
- Barrett PN, Terpening SJ, Snow D, Cobb RR, Kistner O. Vero cell technology for rapid development of inactivated whole virus vaccines for emerging viral diseases. *Expert Rev Vaccines*. 2017; 16(9): 883-894.
- Briant L, Desprès P, Choumet V, Missé D. Role of skin immune cells on the host susceptibility to mosquito-borne viruses. *Virology*. 2014; 464-465: 26-32.
- Byas AD, Ebel GD. Comparative pathology of West Nile virus in humans and non-human animals. *Pathogens*. 2020; 9(1): 48.
- Cardinale E, Bernard C, Lecollinet S, Rakotoharinome VM, Ravaomanana J, Roger M et al. West Nile virus infection in horses, Indian ocean. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2017; 53: 45-49.
- Carro SD, Cherry S. Beyond the surface: endocytosis of mosquito-borne flaviviruses. *Viruses*. 2020; 13(1): 13.
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Virus del Nilo Occidental [en línea]. [Consultado en Abril 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/westnile/index.html>.
- Chaintoutis SC, Papa A, Pervanidou D, Dovas CI. Evolutionary dynamics of lineage 2 West Nile virus in Europe, 2004-2018: phylogeny, selection pressure and phylogeography. *Mol Phylogenet Evol*. 2019; 141: 106617.
- Chancey C, Grinev A, Volkova E, Rios M. The global ecology and epidemiology of West Nile virus. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 376230.

- Christova I, Papa A, Trifonova I, Panayotova E, Pappa S, Mikov O. West Nile virus lineage 2 in humans and mosquitoes in Bulgaria, 2018-2019. *J Clin Virol.* 2020; 127: 104365.
- Coller BA, Pai V, Weeks-Levy C, Ogata SA. Recombinant subunit West Nile virus vaccine for protection of human subjects. Patent application 2012, US20120141520A1.
- Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. West Nile virus: biology, transmission, and human infection. *Clin Microbiol Rev.* 2012; 25(4): 635-648.
- Corrales-Aguilar E. Reseña histórica, virología y ecología del Virus del Nilo Occidental: recomendaciones técnicas. *Rev. costarric. salud pública.* 2014; 23(2): 143-153.
- Dayan GH, Pugachev K, Bevilacqua J, Lang J, Monath TP. Preclinical and clinical development of a YFV 17 D-based chimeric vaccine against West Nile virus. *Viruses.* 2013; 5(12): 3048-3070.
- De Filette M, Ulbert S, Diamond M, Sanders NN. Recent progress in West Nile virus diagnosis and vaccination. *Vet Res.* 2012; 43(1): 16.
- Durbin AP, Wright PF, Cox A, Kagucia W, Elwood D, Henderson S et al. The live attenuated chimeric vaccine rWN/DEN4Δ30 is well-tolerated and immunogenic in healthy flavivirus-naïve adult volunteers. *Vaccine.* 2013; 31(48): 5772-5777.
- Egloff MP, Benarroch D, Selisko B, Romette JL, Canard B. An RNA cap (nucleoside-2'-O-)-methyltransferase in the flavivirus RNA polymerase NS5: crystal structure and functional characterization. *EMBO J.* 2002; 21(11): 2757-2768.
- García San Miguel Rodríguez-Alarcón L, Fernández-Martínez B, Sierra MJ, Vázquez A, Julián P, García E et al. Unprecedented increase of West Nile virus neuroinvasive disease, Spain, summer. *Euro Surveill.* 2021; 26(19): 2002010.
- Gerold G, Bruening J, Weigel B, Pietschmann T. Protein interactions during the *Flavivirus* and *Hepacivirus* life cycle. *Mol Cell Proteomics.* 2017; 16(4 suppl 1): S75-S91.
- Habarugira G, Moran J, Colmant AMG, Davis SS, O'Brien CA, Hall-Mendelin S et al. Mosquito-independent transmission of West Nile virus in farmed saltwater crocodiles (*Crocodylus porosus*). *Viruses.* 2020a; 12(2): 198.
- Habarugira G, Suen WW, Hobson-Peters J, Hall RA, Bielefeldt-Ohmann H. West Nile virus: an update on pathobiology, epidemiology, diagnostics, control and "One Health" implications. *Pathogens.* 2020b; 9(7): 589.
- Haviernik J, Štefánik M, Fojtíková M, Kali S, Tordo N, Rudolf I et al. Arbidol (Umifenovir): a broad-spectrum antiviral drug that inhibits medically important arthropod-borne flaviviruses. *Viruses.* 2018; 10(4): 184.
- Hongoh V, Campagna C, Panic M, Samuel O, Gosselin P, Waaub JP et al. Assessing interventions to manage West Nile virus using multi-criteria decision analysis with risk scenarios. *PLoS One.* 2016; 11(8): e0160651.

- Jans DA, Wagstaff KM. Ivermectin as a broad-spectrum host-directed antiviral: the real deal? *Cells*. 2020; 9(9): 2100.
- Kaiser JA, Barrett ADT. Twenty years of progress toward West Nile virus vaccine development. *Viruses*. 2019; 11(9): 823.
- Khromykh AA, Varnavski AN, Sedlak PL, Westaway EG. Coupling between replication and packaging of flavivirus RNA: evidence derived from the use of DNA-based full-length cDNA clones of Kunjin virus. *J Virol*. 2001; 75(10): 4633-4640.
- Klenk K, Snow J, Morgan K, Bowen R, Stephens M, Foster F et al. Alligators as West Nile virus amplifiers. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10(12): 2150-2155.
- Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletnev SV, Corver J, Lenches E et al. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. 2002; 108(5): 717-725.
- Ledgerwood JE, Pierson TC, Hubka SA, Desai N, Rucker S, Gordon IJ et al. A West Nile virus DNA vaccine utilizing a modified promoter induces neutralizing antibody in younger and older healthy adults in a phase I clinical trial. *J Infect Dis*. 2011; 203(10): 1396-1404.
- Lieberman MM, Nerurkar VR, Luo H, Cropp B, Carrion R Jr, de la Garza M et al. Immunogenicity and protective efficacy of a recombinant subunit West Nile virus vaccine in rhesus monkeys. *Clin Vaccine Immunol*. 2009; 16(9): 1332-1337.
- Luo H, Wang T. Recent advances in understanding West Nile virus host immunity and viral pathogenesis. *F1000Res*. 2018; 7: 338.
- Lustig Y, Sofer D, Bucris ED, Mendelson E. Surveillance and diagnosis of West Nile virus in the face of flavivirus cross-reactivity. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2421.
- MedlinePlus. Signo de meningitis de Kernig [en línea]. [Consultado en Mayo 2021]. Disponible en: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/19077.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19077.htm).
- MedlinePlus. Signo de meningitis de Brudzinski [en línea]. [Consultado en Mayo 2021]. Disponible en: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/19077.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19077.htm).
- National Center for Biotechnology Information. West Nile virus [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=11082&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- Okamoto T, Suzuki T, Kusakabe S, Tokunaga M, Hirano J, Miyata Y et al. Regulation of apoptosis during flavivirus infection. *Viruses*. 2017; 9(9): 243.
- Organización Mundial de la Salud. Enfermedades transmitidas por vectores [en línea]. [Consultado en Abril 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>.

- Organización Mundial de la Salud. Infección por el virus del Nilo Occidental [en línea]. [Consultado en Abril 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus>.
- Paul AM, Acharya D, Duty L, Thompson EA, Le L, Stokic DS et al. Osteopontin facilitates West Nile virus neuroinvasion via neutrophil "Trojan horse" transport. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 4722.
- Paz S. Climate change impacts on West Nile virus transmission in a global context. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015; 370(1665): 20130561.
- Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: review of the literature. *JAMA*. 2013; 310(3): 308-315.
- Pierson TC, Diamond MS. Degrees of maturity: the complex structure and biology of flaviviruses. *Curr Opin Virol*. 2012; 2(2): 168-175.
- Pierson TC, Diamond MS. The continued threat of emerging flaviviruses. *Nat Microbiol*. 2020; 5(6): 796-812.
- Rastogi M, Sharma N, Singh SK. Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virology*. 2016; 13: 131.
- Rizzoli A, Jimenez-Clavero MA, Barzon L, Cordioli P, Figuerola J, Koraka P et al. The challenge of West Nile virus in Europe: knowledge gaps and research priorities. *Euro Surveill*. 2015; 20(20): 21135.
- Rousseau A, Haigh O, Ksiazkiewicz I, Khairallah M, Labetoulle M. Ocular manifestations of West Nile virus. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(4): 641.
- Saiz JC. Animal and human vaccines against West Nile virus. *Pathogens*. 2020; 9(12): 1073.
- Sejvar JJ. Clinical manifestations and outcomes of West Nile virus infection. *Viruses*. 2014; 6(2): 606-623.
- Sejvar JJ. West Nile virus infection. *Microbiol Spectr*. 2016; 4(3).
- Shiryayev SA, Chernov AV, Aleshin AE, Shiryayeva TN, Strongin AY. NS4A regulates the ATPase activity of the NS3 helicase: a novel cofactor role of the non-structural protein NS4A from West Nile virus. *J Gen Virol*. 2009; 90: 2081-2085.
- Slonchak A, Clarke B, Mackenzie J, Amarilla AA, Setoh YX, Khromykh AA. West Nile virus infection and interferon alpha treatment alter the spectrum and the levels of coding and noncoding host RNAs secreted in extracellular vesicles. *BMC Genomics*. 2019; 20(1): 474.
- Suen WW, Prow NA, Hall RA, Bielefeldt-Ohmann H. Mechanism of West Nile virus neuroinvasion: a critical appraisal. *Viruses*. 2014; 6(7): 2796-2825.
- Suthar MS, Diamond MS, Gale M Jr. West Nile virus infection and immunity. *Nat Rev Microbiol*. 2013; 11(2): 115-128.
- Tan TY, Fibriansah G, Kostyuchenko VA, Ng TS, Lim XX, Zhang S et al. Capsid protein structure in Zika virus reveals the flavivirus assembly process. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 895.

- Tay MYF, Vasudevan SG. The transactions of NS3 and NS5 in flaviviral RNA replication. *Adv Exp Med Biol.* 2018; 1062: 147-163.
- Ulbert S. West Nile virus vaccines - current situation and future directions. *Hum Vaccin Immunother.* 2019; 15(10): 2337-2342.
- van der Meulen KM, Pensaert MB, Nauwynck HJ. West Nile virus in the vertebrate world. *Arch Virol.* 2005; 150(4): 637-657.
- Velati C, Angelini P, Pupella S. State of the art: West Nile virus circulation surveillance in Italy and transfusion risk early prevention methods. *Transfus Clin Biol.* 2017; 24(3): 172-175.
- Venter M, Human S, van Niekerk S, Williams J, van Eeden C, Freeman F. Fatal neurologic disease and abortion in mare infected with lineage 1 West Nile virus, South Africa. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(8): 1534-1536.
- Vidaña B, Busquets N, Napp S, Pérez-Ramírez E, Jiménez-Clavero MÁ, Johnson N. The role of birds of prey in West Nile virus epidemiology. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(3): 550.
- ViralZone. *Flavivirus* [en línea]. [Consultado en Marzo 2021]. Disponible en: <https://viralzone.expasy.org/24>.
- Welte T, Reagan K, Fang H, Machain-Williams C, Zheng X, Mendell N et al. Toll-like receptor 7-induced immune response to cutaneous West Nile virus infection. *J Gen Virol.* 2009; 90(Pt 11): 2660-2668.
- Woods CW, Sanchez AM, Swamy GK, McClain MT, Harrington L, Freeman D et al. An observer blinded, randomized, placebo-controlled, phase I dose escalation trial to evaluate the safety and immunogenicity of an inactivated West Nile virus vaccine, HydroVax-001, in healthy adults. *Vaccine.* 2019; 37(30): 4222-4230.
- Zou J, Xie X, Lee le T, Chandrasekaran R, Reynaud A, Yap L et al. Dimerization of flavivirus NS4B protein. *J Virol.* 2014; 88(6): 3379-3391.