

## **A importância da monitorização da Rede de Vigilância de Vetores REVIVE: de novos mosquitos e velhas carraças a novas ameaças em saúde pública (2011-2020)**

*The importance of monitoring by the Vector Surveillance Network REVIVE: from new mosquitoes and old ticks to new threats to public health (2011-2020)*

Maria João Alves<sup>1</sup>, Ana Sofia Santos<sup>1</sup>, Hugo Osório<sup>1</sup>, Rita de Sousa<sup>1</sup>, Líbia Zé-Zé<sup>1</sup>, Isabel Lopes de Carvalho<sup>1</sup>, Fátima Amaro<sup>1</sup>, Manuel Silva<sup>1</sup>, Maria Sofia Núncio<sup>1</sup>; Equipa REVIVE<sup>2</sup>

m.joao.alves@insa.min-saude.pt

(1) Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas, Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Águas de Moura, Portugal

(2) Administrações Regionais de Saúde do Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte, Direção Regional da Saúde dos Açores, Direção Regional da Saúde da Madeira

### **\_Resumo**

O programa REVIVE (Rede de Vigilância de Vetores) resulta de colaboração entre a Direção-Geral da Saúde, as Administrações Regionais de Saúde do Algarve, Alentejo, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Norte, a Direção Regional da Saúde da Madeira, a Direção Regional da Saúde dos Açores e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. No âmbito do REVIVE é realizada a vigilância entomológica de mosquitos (Culicidae), carraças (Ixodidae) e flebotomos (Psychodidae) a nível nacional. O ano de 2020 representou o 13.º ano do programa REVIVE (2008-2020). Nesta publicação apresentam-se, de uma forma resumida, os resultados da vigilância de mosquitos e carraças realizada em 2020, e no período 2011-2019, em todas as regiões do país, dando ênfase aos principais riscos em saúde pública em Portugal. Relativamente aos mosquitos destaca-se a presença dos mosquitos exóticos/invasores *Aedes aegypti* na Madeira e *Aedes albopictus* no norte e sul do continente e o risco da ocorrência de casos autóctones de dengue, Zika e chikungunya transmitidos por estes vetores. Na vigilância de ixodídeos, salienta-se o risco de casos de febre escaro-nodular e borreliose de Lyme e, a cada vez mais provável, ocorrência de casos de febre hemorrágica Crimeia Congo transmitida por carraças e descrita nos últimos anos em Espanha junto da fronteira com Portugal.

### **\_Abstract**

The REVIVE program (Vector Surveillance Network) results from collaboration between the Directorate-General for Health, the Regional Health Administrations of Algarve, Alentejo, Center, Lisbon and Tagus valley and North, the Regional Directorate of Health of Madeira, Regional Directorate of Health of Azores and the National Health Institute Doutor Ricardo Jorge. Within REVIVE, entomological surveillance at the national level is carried out on mosquitoes (Culicidae), ticks (Ixodidae) and sandflies (Psychodidae). The year 2020 represented the 13th year of existence of the REVIVE program (2008-2020). In this publication, the results of mosquito and tick surveillance carried out in 2020, and in 2011-2019, in all regions of the country are briefly presented, emphasizing the main public health risks in Portugal. Among these, we refer the presence of *Aedes aegypti* mosquitoes in Madeira and *Aedes albopictus* in the North and South of the continent and the probable occurrence of autochthonous cases of dengue, Zika and chikungunya transmitted by these vectors, represent the main reason of concern. In tick surveillance, the keynote threats relate

to the risk of cases of Mediterranean spotted fever and Lyme borreliosis and, the more and more likely occurrence of cases of Crimean Congo Hemorrhagic Fever transmitted by *Hyalomma sp.* ticks, which has been described in recent years in Spain along the border with Portugal.

### **\_Introdução**

#### **Mosquitos**

Os mosquitos são insetos que pertencem à família Culicidae, uma das mais primitivas famílias da ordem Diptera, na qual se reconhecem mais de 3500 espécies e subespécies distribuídas por todo o mundo (1).

As espécies com importância em saúde pública pertencem às subfamílias Anophelinae e Culicinae.

Algumas espécies de mosquito são invasoras e a sua ocorrência está associada ao fenómeno da globalização, com o aumento da frequência e volume dos transportes comerciais e deslocamentos humanos, e favorecimento ambiental para o estabelecimento destas espécies pelas alterações climáticas.

Mosquitos invasores em determinadas localizações geográficas podem representar uma ameaça à saúde pública. As espécies do género *Aedes* são as mais frequentes e importantes dadas as suas características bioecológicas e a sua competência vetorial para vários agentes com importância em saúde pública e veterinária, destacando-se os vírus dengue, Zika, chikungunya e febre-amarela. Cinco espécies deste género encontram-se já estabelecidas e em proliferação na



Europa, nomeadamente *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. japonicus*, *Ae. koreicus* e *Ae. atropalpus* (2).

*Aedes aegypti* é uma espécie de climas tropicais e subtropicais e o vetor primário de vírus como o da febre-amarela, dengue, Zika e chikungunya. No território nacional, este mosquito foi identificado pela primeira vez em 2005 na Madeira (3) onde em 2012, oito anos após a sua introdução, foi o vetor primário de um surto de dengue com 2168 casos (4).

A espécie invasora *Ae. albopictus*, com origem no Sudeste Asiático, tem vindo a dispersar-se globalmente através do transporte passivo de ovos em atividades comerciais, nomeadamente o comércio global de pneus usados e plantas ornamentais (5). Na Europa a primeira deteção deste mosquito ocorreu na Albânia em 1979 e atualmente encontra-se em dispersão em vários países europeus tendo sido detetado pela primeira vez em Portugal no âmbito do REVIVE em 2017 (6) no Norte e em 2018 no Algarve.

Na Europa já foram registados em França, Itália e Espanha casos de chikungunya e dengue associadas ao mosquito *Ae. albopictus* (7-9).

### **Carraças**

As carraças, ou ixodídeos, são artrópodes vetores, que parasitam um vasto número de animais. A sua perpetuação na natureza depende da alimentação (refeições sanguíneas) que realizam para manter o seu ciclo de vida enquanto parasitas. As carraças podem parasitar o Homem acidentalmente e, se estiverem infetadas, transmitir agentes infecciosos enquanto efetuam a refeição sanguínea.

Atualmente, conhecem-se 889 espécies de carraças que se subdividem em duas famílias principais: Ixodidae e Argasidae. A família mais importante, no que diz respeito à transmissão de agentes infecciosos, é a família Ixodidae. Em Portugal conhecem-se 22 espécies de carraças desta família e as doenças mais importantes causadas por agentes transmitidos por estas são a febre escarar-nodular e a borreliose de Lyme.

Em Portugal as duas espécies de carraças mais importantes em termos de saúde pública são *Rhipicephalus sanguineus*,

vetor de *Rickettsia conorii* e *Ixodes ricinus*, vetor de *Borrelia burgdorferi* s.l.

*Hyalomma* sp. é o vetor primário do vírus da febre hemorrágica Crimeia Congo (FHCC) que causa em humanos uma doença hemorrágica grave e com mortalidade que oscila entre os 10 e os 40%. A ocorrência em humanos está associada a picada de carraças no campo, ou com animais infetados em atividades associadas a caça ou matadouros, ou, muito importante, a infeções nosocomiais. Seis casos, três destes fatais, de FHCC foram reportados recentemente em Espanha em 2016 em Ávila (10), em 2018 em Badajoz (11) e em 2020 em Salamanca (12), depois de terem sido, pela primeira vez, identificadas carraças positivas sobretudo *Hyalomma lusitanicum* e *H. marginatum* em 2010 muito próximo da fronteira com Portugal no Tejo internacional (13).

### **\_Objetivo**

É objetivo deste artigo apresentar de uma forma resumida, os resultados da vigilância de mosquitos e carraças realizada em 2020, e no período 2011-2019, em todas as regiões do país, dando ênfase aos principais riscos em saúde pública em Portugal.

### **\_Material e métodos**

#### **Mosquitos**

No âmbito do REVIVE mosquitos adultos foram colhidos pelas equipas nas regiões recorrendo a armadilhas tipo CDC e BG, ou similar, iscadas, ou não, com CO<sub>2</sub> ou outro tipo de atrativo. Os mosquitos imaturos foram recolhidos em criadouros aquáticos e armadilhas de ovos (*ovitrap*s) utilizando caços ou semelhante.

Nas colheitas foram registados os dados ambientais, nomeadamente temperaturas mínimas e máximas, humidade relativa e dados de georreferência.

As colheitas de mosquitos no continente ocorreram de maio a outubro, não excluindo a probabilidade de ocorrência de mosquitos noutros períodos do ano devido às alterações climáticas. Na Madeira as atividades de monitorização decorreram durante todo o ano.



As amostras foram enviadas ao laboratório, acondicionadas em caixas refrigeradas e até três dias depois do início do trabalho de campo.

Os mosquitos no estágio adulto recebidos no laboratório foram identificados à espécie e a determinação da atividade viral (flavivírus – *West Nile*, dengue, febre-amarela, Zika e encefalites virais, e alfavírus – *chikungunya*) foi realizada em *pools* até um máximo de 50 espécimes, de acordo com a espécie, género, data e local de colheita, por extração de RNA total e pesquisa direta da presença de RNA viral por RT-PCR (14).

### Carraças

No âmbito do REVIVE as carraças foram colhidas de janeiro a dezembro, uma vez que existem carraças que estão ativas nos meses de inverno (p. ex. *I. ricinus*) e outras que estão ativas sobretudo nos meses de verão (p. ex. *R. sanguineus*). As colheitas foram realizadas na fase de vida livre (sobre a vegetação) pelo método de arrastamento da bandeira e na fase parasitária (sobre o hospedeiro). Foram igualmente registadas as temperaturas mínimas e máximas, humidade relativa e dados de georreferência nas colheitas realizadas na fase de vida livre.

As amostras foram enviadas ao laboratório, acondicionadas em caixas refrigeradas e até três dias depois do início do trabalho de campo.

As carraças recebidas no laboratório foram identificadas à espécie. A presença de *Rickettsia* sp. e *Borrelia* sp. foi pesquisada por PCR em todos os espécimes detetados a parasitar humanos, onde as carraças foram estudadas individualmente, e em 10% dos espécimes colhidos a parasitar animais e/ou na fase de vida livre, onde foram realizados *pools* de DNA com uma a cinco carraças da mesma colheita, espécie e estado evolutivo (15).

Foram também testadas as amostras de carraças identificadas como *Hyalomma* sp. para a presença do vírus da febre hemorrágica Crimeia Congo por *real time* RT-PCR (16).

### \_Resultados

A pandemia COVID-19 afetou significativamente as atividades do REVIVE, tanto ao nível do planeamento e realização de trabalho de campo nas regiões, como no laboratório, em comparação com os anos anteriores.

### Mosquitos

Em 2020 foi realizado esforço de captura de mosquitos adultos e/ou imaturos em 157 concelhos. O esforço de captura por concelho (número de colheitas) de mosquitos adultos foi em média de 10,3 [1-411] e de mosquitos imaturos de 14,7 [1-135] colheitas/concelho.

Em 1288 colheitas de mosquitos adultos (armadilhas/noite) efetuadas em 2020 foram capturados 1997 mosquitos e em 1516 colheitas de imaturos (boletins) foram recolhidos 39712 larvas e pupas de mosquito.

No período de 2011-2019 foram feitas colheitas de mosquitos adultos e/ou imaturos num total de 277 concelhos de Portugal continental e Madeira (figura 1).

No período 2011-2019, o esforço de captura de mosquitos adultos foi em média 17,8 [1-601] e de mosquitos imaturos de 49,4 [1-717] colheitas/concelho. No mesmo período, em 12868 colheitas de mosquitos adultos foram capturados 108577 mosquitos e em 16644 colheitas de imaturos foram recolhidos 227523 larvas e pupas de mosquito.

Em 2020 foram identificados mosquitos adultos e imaturos de 16 espécies nos laboratórios do Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosa do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

De 2011 a 2020 foram identificadas 28 espécies do total das 40 espécies referenciadas para o território português.

A espécie exótica/invasora *Ae. aegypti* foi identificada na ilha da Madeira onde está registada a sua presença desde 2005 (3) (figura 2).

A espécie de mosquito invasora *Ae. albopictus* foi detetada no norte e no sul do continente, onde foram registados pela primeira vez em 2017 e 2018, respetivamente (figura 3).



Figura 1: ↓ Concelhos onde foram realizadas colheitas de mosquitos em 2020 e em 2011-2019.

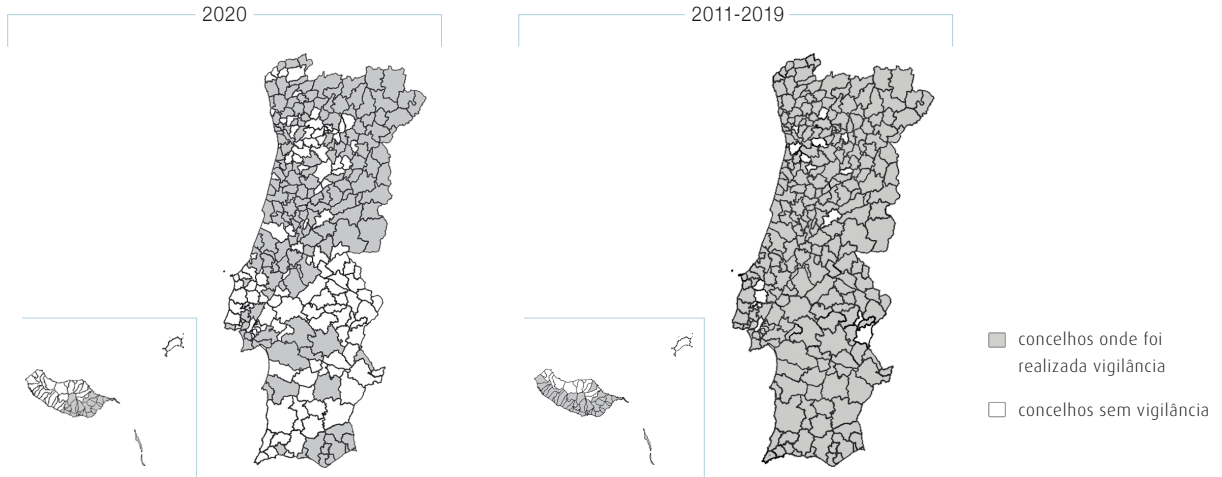


Figura 2: ↓ Distribuição geográfica de *Aedes aegypti* em 2020 e em 2011-2019.

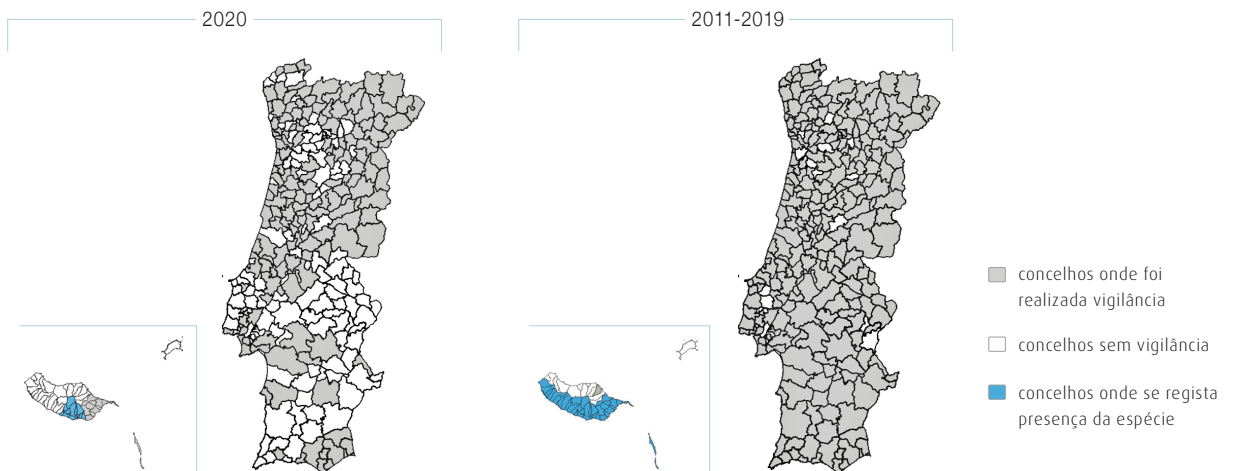
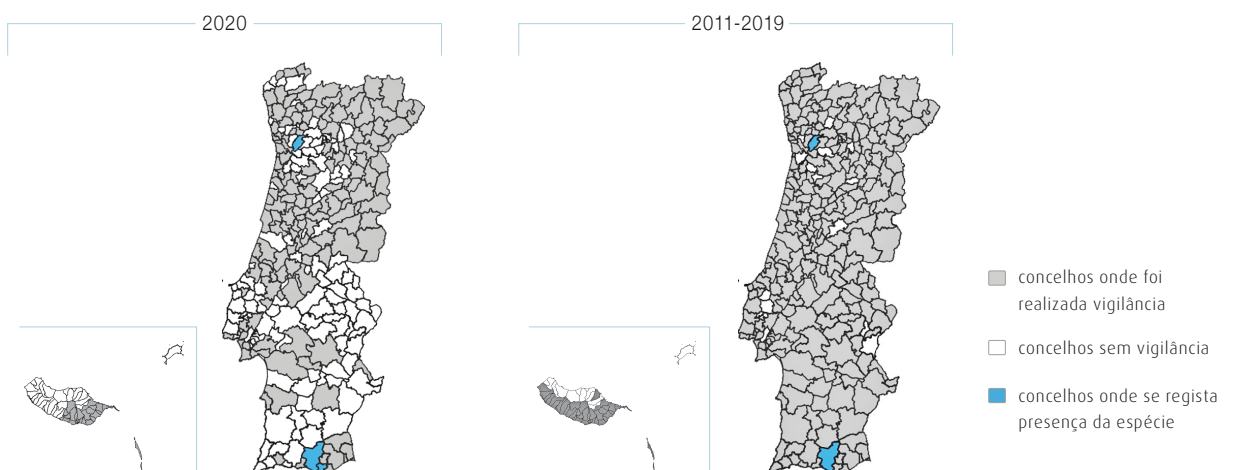


Figura 3: ↓ Distribuição geográfica de *Aedes albopictus* em 2020 e em 2011-2019.





## Carraças

Em 2020 foi realizado esforço de captura de carraças em 117 concelhos. O esforço de captura por concelho (número de colheitas) de mosquitos adultos foi em média de 5,2 [1-43] (figura 4).

Das 604 colheitas realizadas, 367 foram feitas no Homem, 106 no cão, 36 em outros animais e 95 na fase de vida livre. Como colheita efetuada na fase de vida livre da carraça consideraram-se todas as efetuadas na vegetação, vestuário, residências, paredes, habitações, solo, etc.

No total foram capturadas e identificadas 1048 carraças de 12 espécies, nomeadamente, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes canisuga*, *I. frontalis*, *I. hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventraloi*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus pusillus* e *R. sanguineus*. *Rhipicephalus sanguineus*, vetor importante da febre escararodular em Portugal, foi identificado em 56,4% (n=66) dos concelhos onde foram realizadas capturas (figura 5).

*Ixodes ricinus*, vetor da borreliose de Lyme, foi identificado em 40,2% (n=47) dos concelhos onde foram realizadas capturas (figura 6).

Para a pesquisa de borrélias e rickettsias foram analisados 558 ixodídeos do total de exemplares capturados, distribuídos por 11 espécies e provenientes de 105 concelhos de norte a sul do País.

Aproximadamente 10% dos exemplares colhidos em animais ou em fase de vida livre foram selecionados para pesquisa de agentes etiológicos, com base na capacidade vetorial que determinadas espécies têm para transmitir borrélias e rickettsias.

Dos ixodídeos em estudo, 133 (23,8%) foram positivos na deteção de DNA de *Rickettsia* e 14 (2,5%) positivos para a presença de DNA de *Borrelia*.

Relativamente à deteção de Borrélia, foi detetada *B. lusitaniae* (n=13), espécie associada a doença no Homem, e *Borrelia* spp., numa amostra que devido à baixa concentração das bactérias na amostra não foi possível concluir sobre identificação específica.

Relativamente à deteção de *Rickettsia*, foram detetadas sete espécies. *R. monacensis* foi a espécie mais prevalente (n=59; 44,4%), seguida de *R. massiliae* (n=24). *R. conorii* e *R. slovaca*, patogénicas para o Homem, foram detetadas apenas em duas (1,5%) e em sete (5,3%) amostras, respetivamente.

Foram ainda assinaladas coinfeções com *B. lusitaniae* e *R. helvetica* (n=3) e com *B. lusitaniae* e *R. monacensis* (n=6). Estas coinfeções já foram detetadas em anos anteriores e o seu impacto na transmissão ao Homem continua por esclarecer.

Figura 4:  Concelhos onde foram realizadas colheitas de carraças em 2020 e em 2011-2019.

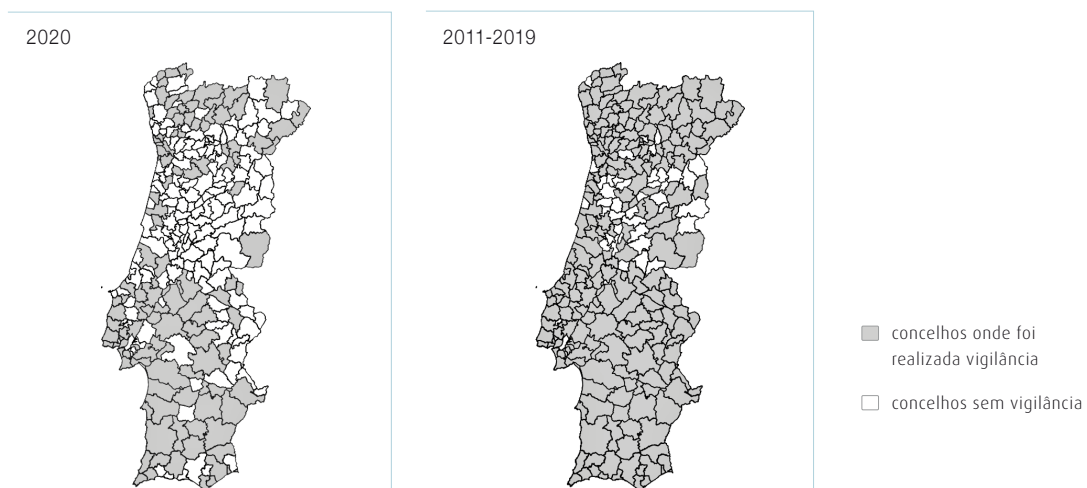




Figura 5: ↘ Distribuição geográfica de *Rhipicephalus sanguineus* em 2020 e em 2011-2019.

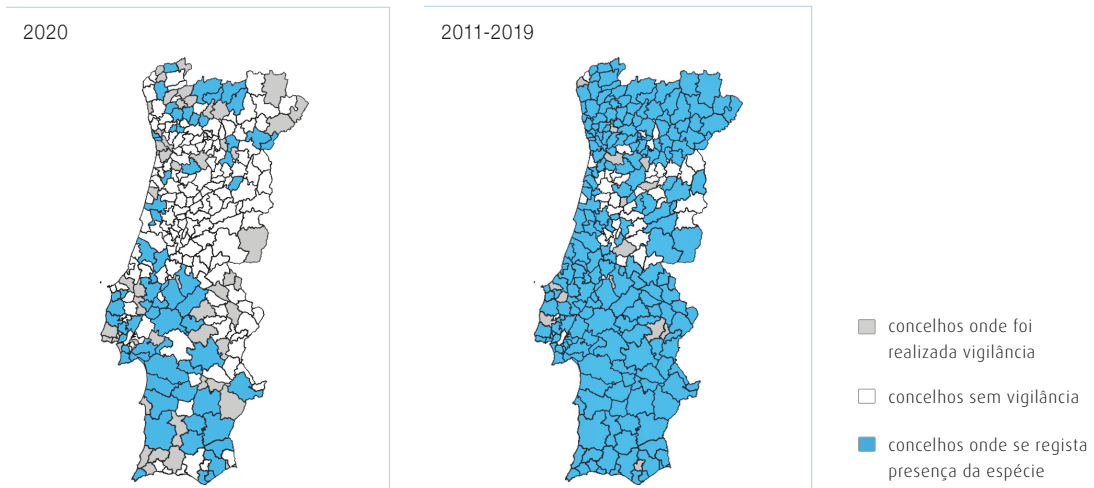
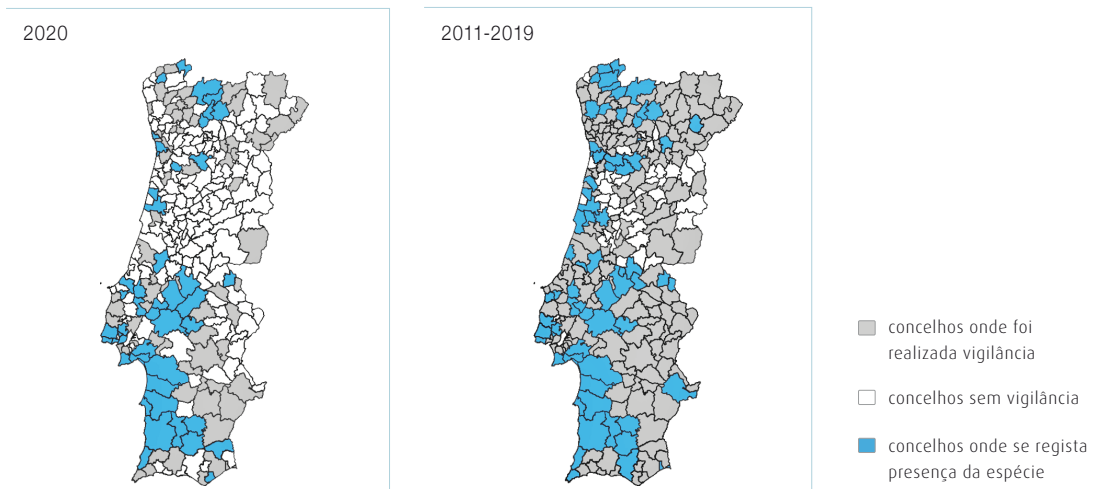


Figura 6: ↘ Distribuição geográfica de *Ixodes ricinus* em 2020 e em 2011-2019.



*Hyalomma marginatum* e *Hyalomma lusitanicum* podem ser vetores de febre hemorrágica Crimeia Congo. As carrças destas espécies têm sido identificadas em zonas pontuais, estando os imaturos associados a aves e pequenos mamíferos e os adultos a ungulados domésticos e silvestres (figura 7).

Desde 2019 que todas as carrças do género *Hyalomma* (n=24) colhidas no âmbito do REVIVE têm sido testadas para a presença do vírus da febre hemorrágica Crimeia Congo com resultados negativos.

## Discussão e conclusões

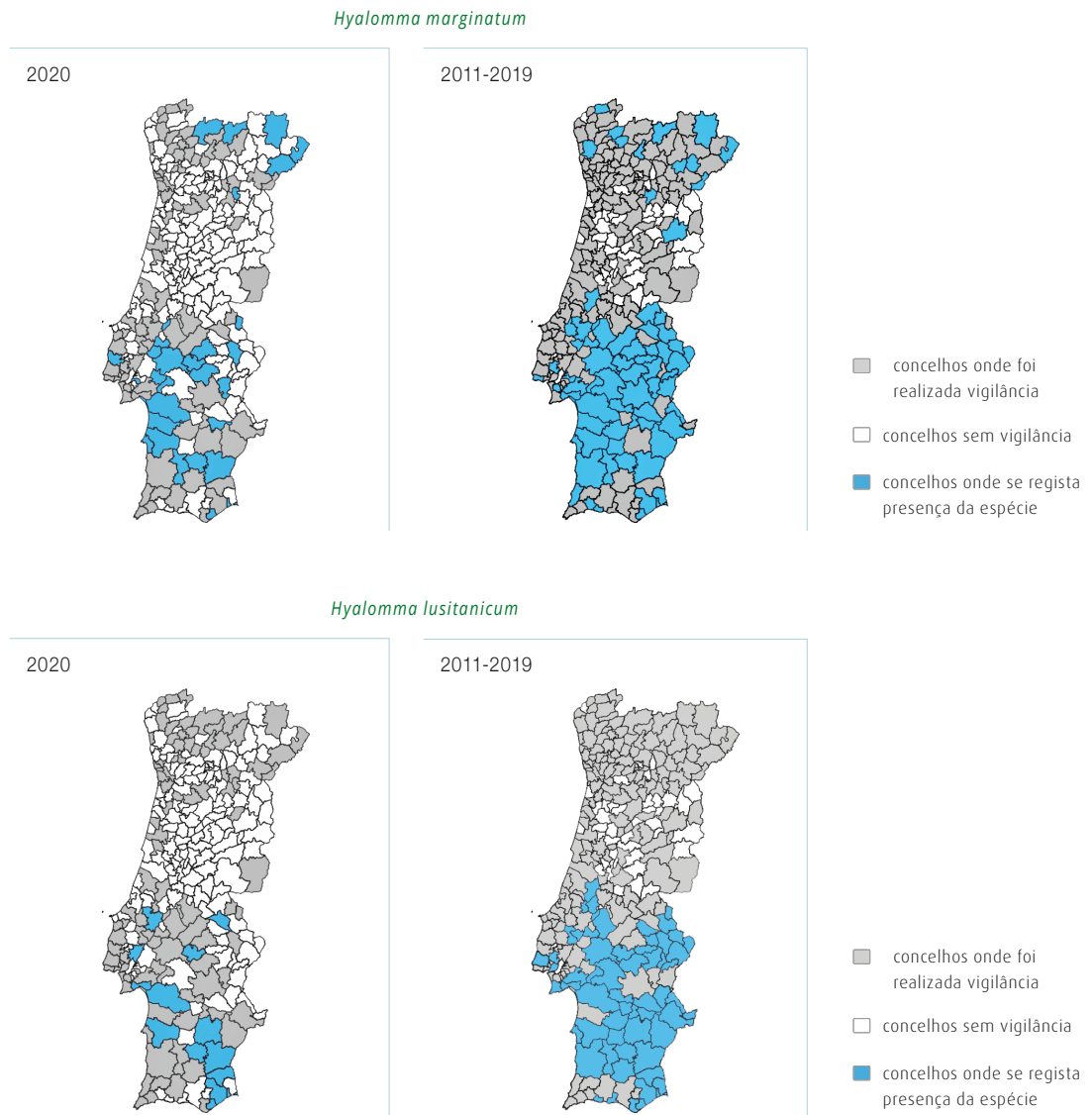
### *Mosquitos*

Em 2020 foram realizadas, entre maio e outubro, 1288 colheitas de culicídeos adultos e 1516 de imaturos em 157 concelhos de Portugal continental e Madeira.

Em 2020 o esforço de captura de mosquitos adultos e imaturos foi reduzido, em relação a 2019, em 55% e 62%, respetivamente, devido à pandemia COVID-19. O número de concelhos em estudo também foi 29% inferior ao do ano anterior.



Figura 7: ↘ Distribuição geográfica de *Hyalomma marginatum* e *Hyalomma lusitanicum* em 2020 e em 2011-2019.



Em 41709 mosquitos coletados, 1997 adultos e 39712 imaturos, foram identificadas 16 espécies de mosquitos, entre elas duas espécies exóticas/invasoras, nomeadamente *Aedes aegypti* identificado na Madeira pela primeira vez em 2005, e *Ae. albopictus* identificado, no âmbito do REVIVE, pela primeira vez em 2017 no Norte e em 2018 no Algarve.

A espécie *Ae. aegypti*, presente desde 2005, encontra-se estabelecida na ilha da Madeira com valores de abundância relativa elevados, à semelhança de anos anteriores. A presença deste mosquito na região da Madeira continua a

representar um risco para a transmissão de agentes com importância em saúde pública, nomeadamente arbovírus, como já aconteceu em 2012, ano em que foi registado o primeiro surto de dengue.

A espécie *Ae. albopictus*, detetada na região norte do país em 2017 e no Algarve em 2018, representa outro fator de risco. A vigilância desta espécie deve ser mantida de modo a compreender o fenómeno de estabelecimento e dispersão.



Apesar das medidas de controlo em curso, que incluem a gestão de criadouros naturais e eliminação de criadouros artificiais/domésticos que promovem a proliferação desta espécie, tem-se verificado a presença contínua e o alargamento da sua área de distribuição.

Em ambas as regiões tem sido promovida a educação comunitária com recurso a meios de divulgação para evitar a picada e reduzir os criadouros domésticos.

No entanto, novas estratégias e metodologias de controlo poderão vir a ser consideradas, de acordo com as orientações internacionais, para tornar mais efetiva a supressão das populações adultas, reduzir a abundância e capacidade de dispersão, reduzindo o risco de ocorrência de doenças associadas.

Na pesquisa de arbovírus não foram identificados vírus patogénicos. No entanto, o vírus *West Nile* (WN) (flavivírus transmitido por mosquitos do género *Culex* e agente etiológico de febre e de doença neuroinvasiva) conhecido desde os anos 60 em Portugal (17), tem sido responsável por casos clínicos, sobretudo a sul, em 2004, 2010 e 2015 (18-20).

A presença do mosquito vetor *Ae. albopictus*, espécie exótica com características invasoras, na região norte e no Algarve apontam para uma situação de estabelecimento e dispersão geográfica, representando uma situação de risco acrescido para a saúde pública que vai exigir um esforço de monitorização constante, bem como medidas de controlo eficazes com vista à erradicação das populações detetadas e que impeçam a dispersão deste mosquito para outras regiões.

Estudos prévios indicam que os primeiros surtos associados aos vetores *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* ocorrem entre cinco a 15 anos após a sua introdução numa nova região geográfica (21). Por outro lado, face ao grande número de viajantes entre Portugal e o Brasil (e entre outros Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa – PALOP) onde muitos dos vírus transmitidos por estes vetores são endémicos, Portugal é considerado um dos países europeus em maior risco de entrada de viajantes virémicos com arbovírus transmitidos por mosquitos (22).

A população em risco de contrair uma doença transmitida por mosquitos tem vindo a aumentar em todo o Mundo a níveis nunca antes observados devido às alterações na distribuição geográfica destas duas espécies – *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* – o que alerta para a necessidade da deteção atempada da sua introdução e da determinação da atividade viral, isto é, para quando a identificação de casos humanos de dengue, Zika ou chikungunya em Portugal?

### **Carraças**

Em 2020, entre janeiro e dezembro, realizaram-se 607 colheitas de ixodídeos em 117 concelhos de Portugal continental. Em 2020, o número total de colheitas diminuiu 44,5% comparativamente com 2019.

As colheitas realizadas no Homem diminuíram 16,4% relativamente a 2019. No cão e em outros animais diminuíram 60,3% e 57,6%, respetivamente. Na fase de vida livre diminuíram 68%.

No laboratório foram identificados 1048 ixodídeos pertencentes a 12 espécies, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Hyalomma lusitanicum*, *H. marginatum*, *Ixodes canisuga*, *I. frontalis*, *I. hexagonus*, *I. ricinus*, *I. ventralloi*, *Rhipicephalus bursa*, *R. pusillus* e *R. sanguineus*.

A pesquisa de borrélias e rickettsias permitiu de 2011 a 2019 a identificação de agentes patogénicos para o Homem como, *R. conorii*, *R. mongolitimonae*, *R. slovaca*, *B. lusitaniae* e *B. afzelii*.

Em Portugal, até à data, estão apenas descritos casos de infeção no Homem por *R. conorii*, *R. slovaca* e *R. sibirica mongolitimonae*.

Quanto à infeção por rickettsias, como *R. massiliae*, *R. helvetica* e *R. monacensis* o seu grau de patogenia parece estar mais condicionado pelo estado imunitário do indivíduo picado estando apenas descritos casos pontuais de doença.

A identificação dos principais fatores ecológicos que condicionam a presença/ausência de determinada espécie de carraça num dado local ou época do ano também têm sido analisados e agora, passados dez anos, começam a



ser suficientemente robustos para permitirem a sua análise estatística e o desenvolvimento de modelos de preditivos em termos de presença/ausência.

O reforço das capturas realizadas em humanos, que se deve à colaboração dos profissionais de saúde dos centros de saúde e hospitais, foi relevante para a confirmação que o contacto do Homem com os ixodídeos é mais frequente do que habitualmente referido em estudos realizados em Portugal. Este facto também está de acordo com as referências bibliográficas que mencionam o aumento da incidência das doenças transmitidas por carraças, não só em Portugal, como em toda a Europa.

Desde o início que este programa tem contribuído para o conhecimento ecoepidemiológico de espécies de vetores, a sua distribuição geográfica, período de atividade e abundância, assim como para o esclarecimento do seu papel como vetor de agentes de doença para o Homem.

Desde 2019, que é feita vigilância sistemática em carraças do género *Hyalomma* do vírus da febre hemorrágica Crimeia Congo. Já detetada em Espanha, próximo da fronteira com Portugal, a presença deste vírus, classificado com o nível de biossegurança quatro, o mais elevado, a mortalidade associada e a capacidade de provocar infeções nosocomiais pode significar um desafio importante em saúde pública em Portugal.

O programa REVIVE resulta da cooperação interinstitucional e tem contribuído para um conhecimento sistemático da fauna de culicídeos e de ixodídeos de Portugal e do seu potencial papel de vetor, constituindo uma componente dos programas de vigilância epidemiológica indispensável à avaliação do risco de transmissão de agentes patogénicos transmitidos por vetores.

#### Agradecimento:

A todos os profissionais do País envolvidos no projeto REVIVE, pela colaboração no trabalho de campo e de registo. Lista completa da equipa em: REVIVE – Culicídeos e Ixodídeos: relatório 2020, pp. 55-59. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/7711>.

#### Referências bibliográficas:

- (1) Edwards FW. Diptera, Family Culicidae. IN: Wytzman P. Genera Insectorum. Brussels: Desmet Verteneuil, 1932, pp. 1-258.
- (2) Medlock JM, Hansford KM, Versteirt V, et al. An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. Bull Entomol Res. 2015 Dec;105(6):637-63. <https://doi.org/10.1017/S0007485315000103>
- (3) Margarita Y, Santos Grácio AJ, Lencastre I, et al. First record of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) in Madeira Island – Portugal. Acta Parasitol Port. 2006;13:59-61.
- (4) European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological update: Outbreak of dengue in Madeira, Portugal, 13 February 2013 [internet]. [consult.11/5/2021]. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-outbreak-dengue-madeira-portugal-13-february-2013>
- (5) Benedict MQ, Levine RS, Hawley WA, et al. Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. Vector Borne Zoonotic Dis. 2007 Spring;7(1):76-85. <https://doi.org/10.1089/vbz.2006.0562>
- (6) Osório HC, Zê-Zê L, Neto M, et al. Detection of the Invasive Mosquito Species *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera: Culicidae) in Portugal. Int J Environ Res Public Health. 2018 Apr 21;15(4):820. <https://doi.org/10.3390/ijerph15040820>
- (7) Calba C, Guerbois-Galla M, Franke F, et al. Preliminary report of an autochthonous chikungunya outbreak in France, July to September 2017. Euro Surveill. 2017 Sep;22(39):17-00647. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.39.17-00647>
- (8) Manica M, Guzzetta G, Poletti P, et al. Transmission dynamics of the ongoing chikungunya outbreak in Central Italy: from coastal areas to the metropolitan city of Rome, summer 2017. Euro Surveill. 2017 Nov;22(44):17-00685. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.44.17-00685>
- (9) European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: Local transmission of dengue fever in France and Spain, Oct 2018. Solna, Sw: ECDC, 2018. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-local-transmission-dengue-fever-france-and-spain>
- (10) Negro A, de la Calle-Prieto F, Palencia-Herrejón E, et al.; Crimean Congo Hemorrhagic Fever@Madrid Working Group. Autochthonous Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Spain. N Engl J Med. 2017 Jul 13;377(2):154-161. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1615162>
- (11) Negro A, Sánchez-Arroyo R, Díez-Fuertes F, et al. Fatal Case of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Caused by Reassortant Virus, Spain, 2018. Emerg Infect Dis. 2021 Apr;27(4):1211-15. <https://doi.org/10.3201/eid2704.203462>
- (12) Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Evaluación Rápida de Riesgo: Detección de casos de Fiebre hemorrágica de Crimeia-Congo en Salamanca, agosto 2020. Madrid: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, 2020. [https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/Crimea\\_Congo/docs/20200827\\_ERR\\_Crimea\\_Congo\\_Salamanca.pdf](https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/Crimea_Congo/docs/20200827_ERR_Crimea_Congo_Salamanca.pdf)
- (13) Estrada-Peña A, Palomar AM, Santibáñez P, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks, Southwestern Europe, 2010. Emerg Infect Dis. 2012 Jan;18(1):179-80. <https://doi.org/10.3201/eid1801.111040>
- (14) Osório HC, Zê-Zê L, Amaro F, et al. Mosquito surveillance for prevention and control of emerging mosquito-borne diseases in Portugal - 2008-2014. Int J Environ Res Public Health. 2014 Nov 12;11(11):11583-96. <https://doi.org/10.3390/ijerph111111583>
- (15) de Carvalho IL, Milhano N, Santos AS, et al. Detection of *Borrelia lusitaniae*, *Rickettsia* sp. IRS3, *Rickettsia monacensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* collected in Madeira Island, Portugal. Vector Borne Zoonotic Dis. 2008 Aug;8(4):575-9. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0245>
- (16) Atkinson B, Chamberlain J, Logue CH, et al. Development of a real-time RT-PCR assay for the detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Vector Borne Zoonotic Dis. 2012 Sep;12(9):786-93. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0770>
- (17) Filipe AR. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. Acta Virol. 1972 Jul;16(4):361.



- (18) Connell J, McKeown P, Garvey P, et al. Two linked cases of West Nile virus (WNV) acquired by Irish tourists in the Algarve, Portugal. *Euro Surveill.* 2004;8(32):pii=2517. <https://doi.org/10.2807/esw.08.32.02517-en>
- (19) Alves MJ, Poças JMD, Luz T, et al. Infecção por vírus West Nile (Flavivírus) em Portugal: considerações acerca de um caso clínico de síndrome febril com exantema. *RPDI.* 2012;8(1):46-51.
- (20) Zé-Zé L, Proença P, Osório HC, et al. Human case of West Nile neuroinvasive disease in Portugal, summer 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(38). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.38.30024>
- (21) Kraemer MUG, Reiner RC Jr, Brady OJ, et al. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Nat Microbiol.* 2019 May;4(5):854-63. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0376-y>. Erratum in: *Nat Microbiol.* 2019 Mar 21; Erratum in: *Nat Microbiol.* 2019 Apr 8
- (22) Massad E, Amaku M, Coutinho FAB, et al. Estimating the probability of dengue virus introduction and secondary autochthonous cases in Europe. *Sci Rep.* 2018 Mar 15;8(1):4629. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22590-5>