



Resurgimiento de la fiebre amarilla: diagnóstico clínico precoz en humanos y la vigilancia epizootica en el contexto sudamericano

Franklin Rómulo Aguilar-Gamboa ^{1,2,a}

1. Grupo de Investigación en Inmunología y Virología del Norte, Lambayeque, Perú.
2. Hospital regional Lambayeque, laboratorio de inmunología y virología.
- a. Biólogo microbiólogo, especialista en microbiología clínica

*Correspondencia:

Franklin Rómulo Aguilar-Gamboa
correo: faguilar@hrlamb.gob.pe

Introducción:

La fiebre amarilla experimenta un resurgimiento en la región de las Américas. Hasta el 25 de mayo de 2025 se notificaron 235 casos humanos con una tasa de letalidad del 41 %). **Objetivo:** Revisar el panorama epidemiológico actual de fiebre amarilla y, en función de ello, analizar las limitaciones de las pruebas diagnósticas clásicas y evaluar tecnologías moleculares emergentes para optimizar la vigilancia y respuesta ante brotes. **Métodos:** Revisión narrativa de literatura científica (2015 - 2025) en PubMed, Scopus, Web of Science, LILACS y SciELO. Se incluyeron 55 estudios primarios validados, organizados en cuatro ejes temáticos. **Resultados:** Las limitaciones diagnósticas de la fiebre amarilla incluyen la reactividad cruzada serológica IgM/IgG con flavivirus y persistencia postvacunal hasta cuatro años y la RT-PCR convencional con ventana ≤ 14 días que requiere laboratorios equipados. Como solución, el estudio propone tecnologías emergentes como la digital PCR que cuantifica ARN viral en cargas extremadamente bajas con precisión absoluta en epizootias con viremias incipientes; la RT-LAMP detecta el virus en menos de una hora con sensibilidad 10 veces mayor (LOD 0,29-12 PFU/mL), sin termociclador y es ideal para campo; CRISPR-dx (SHERLOCK/DETECTR) permite detección ultrarrápida con especificidad de secuencia; es aún experimental para flavivirus pero con potencial de bajo costo; y la NGS/Metagenómica caracteriza cepas circulantes, diferencia virus salvajes de vacunales y detecta coinfecciones. **Conclusiones:** La modernización diagnóstica de fiebre amarilla es urgente. Las tecnologías emergentes superan limitaciones de sensibilidad y especificidad. Se requiere fortalecer redes de laboratorios en América Latina, validar algoritmos integrados y coordinar respuestas transfronterizas para contener la reemergencia de esta enfermedad.

Palabras clave: Fiebre Amarilla; Virus de la fiebre amarilla; Técnicas de Diagnóstico Molecular; Epizootia

Yellow Fever Resurgence: Early Clinical Diagnosis in Humans and Epizootic Surveillance in the South American Context

Abstract

INTRODUCTION: Yellow fever is undergoing a resurgence in the Americas, with 235 human cases and a 41% case fatality rate reported as of May 25, 2025. **OBJECTIVE:** To review the current epidemiological landscape of yellow fever and evaluate the limitations of conventional diagnostic methods versus emerging molecular technologies for optimizing outbreak surveillance and response. **METHODS:** Narrative review of scientific literature (2015-2025) across PubMed, Scopus, Web of Science, LILACS, and SciELO, including 55 validated primary studies organized into four thematic axes. **RESULTS:** Conventional diagnostics are limited by IgM/IgG serological cross-reactivity with flaviviruses, post-vaccination antibody persistence up to 4 years, and RT-PCR's ≤ 14 -day detection window requiring specialized laboratories. Emerging solutions include: digital PCR for absolute quantification of viral RNA at ultra-low loads in epizootics with incipient viremia; RT-LAMP for field-deployable detection within 1 hour with 10-fold higher sensitivity (LOD 0.29-12 PFU/mL) without thermal cyclers; CRISPR-dx (SHERLOCK/DETECTR) for ultra-rapid sequence-specific detection with low-cost potential, though still experimental for flaviviruses; and NGS/metagenomics for strain characterization and differentiation of wild-type from vaccine-derived viruses. **CONCLUSIONS:** Urgent diagnostic modernization is needed. Emerging technologies address critical sensitivity and specificity gaps, but require strengthened Latin American laboratory networks, validated integrated algorithms, and coordinated cross-border responses to contain yellow fever re-emergence

Keywords: Yellow Fever; Yellow fever virus; Molecular Diagnostic Techniques; Epizootic

INTRODUCCIÓN

La fiebre amarilla es una enfermedad viral aguda transmitida por mosquitos, endémica de las regiones tropicales y subtropicales de Sudamérica y África. El agente causal es un virus de ARN perteneciente al género *Flavivirus*, emparentado con otros virus de importancia médica como los de la encefalitis del Nilo Occidental, encefalitis japonesa, encefalitis de San Luis, así como con los virus del dengue y zika ⁽¹⁾. La transmisión ocurre principalmente durante la temporada de lluvias, mediante la picadura de mosquitos infectados, como *Aedes aegypti* en zonas urbanas y mosquitos de los géneros *Haemagogus* y *Sabethes* en ambientes selváticos sudamericanos, los cuales se reproducen en huecos de árboles y otros reservorios naturales. Los seres humanos se infectan al ser picados por estos vectores mientras transitan, trabajan o residen en áreas boscosas ^(1,2).

Desde los últimos meses de 2024, se ha registrado un incremento significativo en los casos humanos confirmados de fiebre amarilla en varios países de América del Sur. Durante ese año, la mayoría de los casos se concentraron principalmente en la región de la cuenca amazónica. Sin embargo, en 2025 se ha observado un cambio en la distribución geográfica de la enfermedad, con una expansión progresiva hacia zonas fuera del ámbito amazónico ⁽³⁾, tales como los departamentos de Tolima y Caldas en Colombia ⁽⁴⁾, así como Sao Paulo en Brasil ⁽⁵⁾ lo que debido a su proximidad a centros urbanos representa un importante riesgo de brote urbano. En la región de las Américas, hasta el 25 de mayo de 2025 se notificaron 235 casos humanos confirmados de fiebre amarilla en cinco países, incluyendo 96 defunciones (tasa de letalidad del 41 %) ⁽⁶⁾.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que, tras un período de incubación de tres a seis días, la fiebre amarilla puede evolucionar hacia una segunda fase tóxica caracterizada por una letalidad que puede alcanzar hasta el 50 % ⁽⁷⁾ y suele extenderse hasta por 10 días. Debido a que los fallecimientos ocurren con mayor frecuencia entre el séptimo y décimo día de la enfermedad ⁽⁸⁾ y que la mayoría de las muertes están asociadas a una atención médica tardía o a la falta de acceso oportuno a unidades de cuidados intensivos, es fundamental asegurar el soporte clínico especializado en el entorno hospitalario para mejorar la tasa de supervivencia ⁽⁹⁾.

En este sentido, el diagnóstico oportuno y preciso de la fiebre amarilla es esencial para mejorar la supervivencia, contener la propagación del virus y activar de manera eficiente las medidas de respuesta en salud pública. Sin embargo, en áreas donde circulan otros flavivirus como dengue y Zika, se han descrito anticuerpos IgM e IgG con reactividad cruzada, lo que puede generar falsos positivos y obliga a realizar pruebas diferenciales o neutralización (PRNT) para su confirmación ⁽¹⁰⁾. En tanto, la RT-PCR requiere una ventana muy específica de viremia para ser efectiva ya que es más sensible los primeros tres a 10 días tras el inicio de síntomas, con reportes de detección hasta 14 días solo en casos graves ⁽¹¹⁾. Debido a que la viremia es relativamente breve, un resultado negativo de RT-PCR no descarta el diagnóstico, por lo que las guías recomiendan combinar métodos: RT-PCR en la fase aguda y serología (IgM

en la fase post aguda, siguiendo algoritmos de interpretación ⁽¹²⁾.

A diferencia de la vigilancia humana, la epizootica debe interceptar el virus antes de que salte la barrera de especie. Actualmente, este sistema enfrenta fallas estructurales que aumentan el riesgo de reintroducción urbana. En el contexto actual de reemergencia de la fiebre amarilla en América del Sur, se vuelve necesario incorporar tecnologías diagnósticas más sensibles, específicas y versátiles, no solo aplicables en las distintas fases clínicas de la enfermedad, sino también en estudios de vigilancia en primates no humanos y vectores. Herramientas como la PCR digital, la metagenómica, la RT-LAMP y diversas plataformas portátiles de diagnóstico molecular ofrecen un enfoque más integral y adaptable a entornos de campo y laboratorio. En este marco, el presente artículo tiene como objetivo ofrecer una breve revisión actualizada de las herramientas diagnósticas disponibles para la fiebre amarilla, analizando sus ventajas, limitaciones y aplicaciones clínicas y epidemiológicas frente a los brotes recientes en la región.

METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda bibliográfica en cinco bases de datos (PubMed, Scopus, Web of Science, LILACS, SciELO) durante mayo a junio de 2025, empleando términos controlados y libres relacionados con fiebre amarilla y tecnologías diagnósticas. El período de publicación se limitó a 2015 - 2025 para priorizar evidencia contemporánea sobre emergencias tecnológicas. Se consideraron como criterios de inclusión estudios originales que evaluaron: sensibilidad y especificidad diagnóstica de métodos serológicos o moleculares para virus de fiebre amarilla, caracterización molecular de brotes recientes (2016-2025), validación de plataformas emergentes (dPCR, RT-LAMP, CRISPR-dx, NGS) en muestras humanas o primates y análisis de reactividad cruzada con flavivirus. Se requirió $n \geq 10$ muestras clínicas o epidemiológicas por estudio.

Se excluyeron revisiones sistemáticas previas, comunicaciones de caso único, métodos sin validación analítica, estudios con < 10 muestras, y aquellos sin reporte de métricas diagnósticas (sensibilidad, especificidad, límites de detección). Además, se realizó un cribado independiente en título/resumen y lectura completa, y se creó base de datos en Excel con variables: autores/año, tipo de estudio, muestra (humanos/PNH), técnica diagnóstica, sensibilidad/especificidad, límites de detección, genotipos evaluados, brotes estudiados, limitaciones reportadas.

Los criterios de selección aplicados a los 1 247 registros iniciales derivaron en 55 artículos elegibles, organizados en cuatro ejes temáticos: epidemiológico ($n = 10$), serológico ($n = 14$), molecular convencional ($n = 8$) y tecnologías emergentes ($n = 23$) tal como se puede ver en la figura 1.

Limitaciones metodológicas: La revisión narrativa no incluyó metaanálisis cuantitativo ni evaluación formal de sesgo de publicación. La heterogeneidad en diseños y gold standards impidió comparación directa entre todas las técnicas. Además, 15 artículos fueron excluidos por acceso restringido, potencialmente introduciendo sesgo de disponibilidad.

Actualización: Se realizó búsqueda complementaria de preprints (bioRxiv, medRxiv) y reportes técnicos de OPS/OMS (2024 - 2025) para capturar datos de brotes recientes no aún publicados en revistas indexadas, incluidos como referencias institucionales ($n=3$).

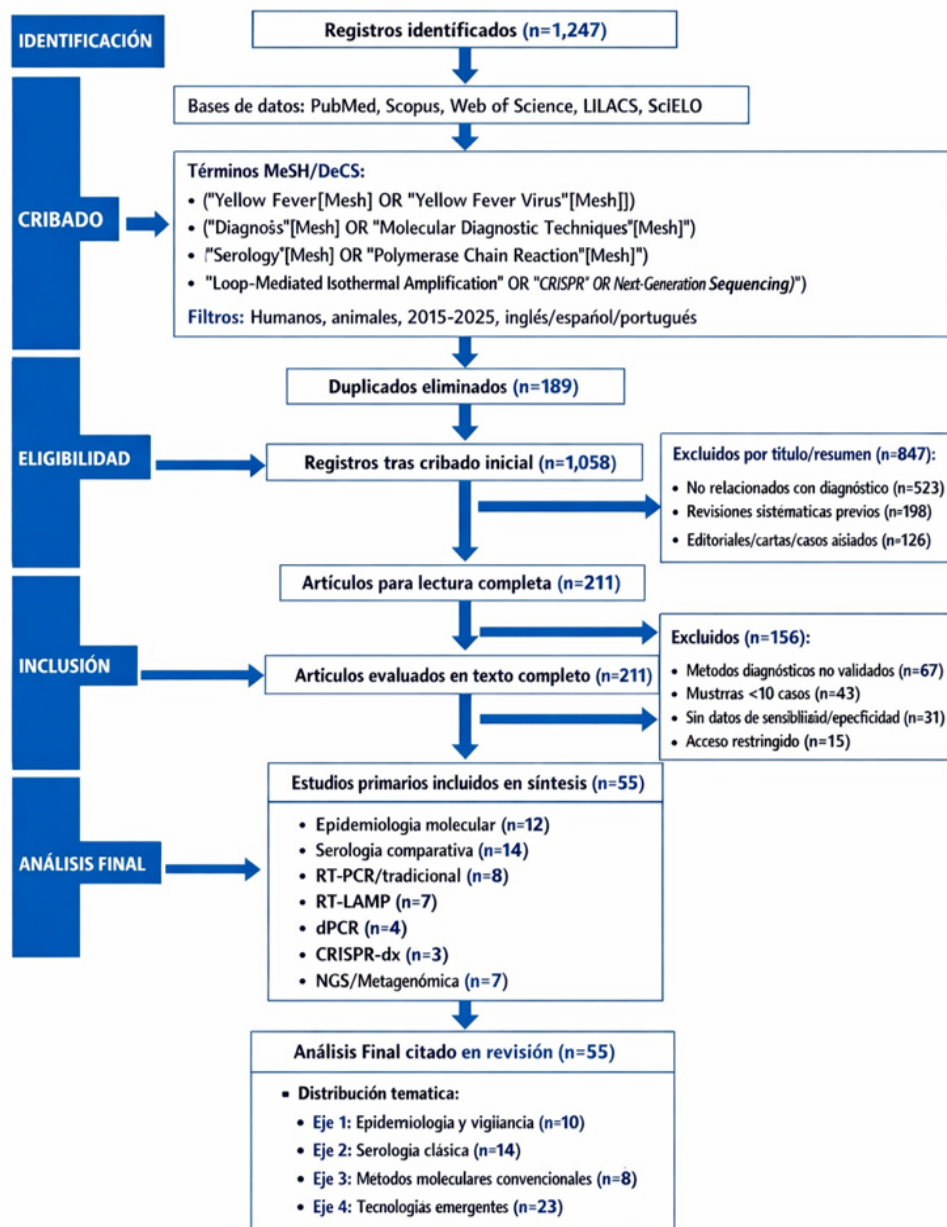


Figura 1. Diagrama prisma para identificación y selección de estudios para la revisión. La Imagen es de diseño propio, elaborado mediante el uso de Chat GTP IA.

DESARROLLO

1. Panorama epidemiológico actual de la fiebre amarilla

La distribución de los vectores de fiebre amarilla se da principalmente en las regiones tropicales de África y Sudamérica. La OMS estima que cada año se producen 200 000 casos de la enfermedad en todo el mundo, y el 90 % de ellos se notifican en África ⁽¹³⁾. En esta región, donde se originó la fiebre amarilla, los vectores y la mayoría de las especies de simios presentan mayor resistencia a la infección y rara vez desarrollan la enfermedad ⁽¹⁴⁾. Además, en África se presentan los tres ciclos: selvático (primates y mosquitos de bosque), intermedio (transmisión en zonas rurales/periurbanas) y urbano (hombre–*Aedes aegypti*–hombre) ⁽¹⁵⁾.

En la región de las Américas, la fiebre amarilla se transmite principalmente a través del ciclo selvático, en el que intervienen los mosquitos *Haemagogus* y *Sabethes*, mientras que el ciclo urbano se activa cuando *Aedes aegypti* infectado transmite el

virus entre humanos. En Sudamérica, la transmisión del virus se ha vinculado predominantemente al ciclo selvático, donde los primates no humanos (PNH), especialmente las especies neotropicales, son altamente susceptibles a la infección ⁽¹⁴⁾. A diferencia de África, en esta región los PNH pueden desarrollar infecciones letales, sirviendo como centinelas biológicos durante brotes epizooticos ⁽¹⁶⁾.

En el contexto de las epizootias, la fiebre amarilla deja una huella distintiva según el continente. En África, el virus circula entre reservorios primates bien establecidos: los babuinos (*Papio*), los monos colobos (*Colobus*), los vervets y monos verdes (*Cercopithecus*), los mangabeys (*Cercocebus*), y hasta nuestros cercanos parientes, los chimpancés (*Pan troglodytes*). Mientras que, en las Américas, la red de hospedadores es igualmente compleja, con los centinela más vulnerables siendo los monos aulladores (*Alouatta*), cuya letalidad supera el 90 %

en brotes⁽¹⁷⁾. Otros actores clave son los ágiles monos ardilla (*Saimiri*), los monos araña (*Ateles*), y los nocturnos monos búho (*Aotus*). Pero quizás el dato más importante de los últimos brotes (2016 - 2019) es que, en São Paulo, Brasil, se detectó circulación activa en títiés urbanos del género *Callithrix*; un salto ecológico que debería encender todas las alertas de salud pública⁽¹⁸⁾.

La presencia de especies del género *Callithrix* cerca de centros urbanos, y la detección del virus en ellos, demuestra la alta probabilidad del salto del ciclo selvático al ciclo urbano mediado por *Aedes aegypti*, lo cual no se veía en Brasil desde 1942. Los títiés (*Callithrix*) son una especie común en parques urbanos y se ha reportado que pueden tener una viremia más baja o menos letal que los monos aulladores (*Alouatta*), lo que a veces los hace más difíciles de detectar clínicamente⁽¹⁹⁾.

En este sentido, existen importantes desafíos en la vigilancia epizootica. Hasta el 25 de mayo de 2025, solo tres de los cinco países afectados con fiebre amarilla confirmaron epizootias. El caso más dramático es Brasil, con 1 032 muertes sospechosas de PNH, de las cuales apenas 80 fueron confirmadas (en São Paulo y Minas Gerais); seguido por Colombia con 51 epizootias confirmadas y el reporte de un caso en Bolivia⁽²⁰⁾. Mientras que en el Perú, aunque se implementó un piloto de vigilancia de epizootias no se han tenido reportes a la fecha de redacción de la presente⁽²¹⁾.

La baja tasa de confirmación de epizootias frecuentemente se debe a factores logísticos como el muestreo tardío en

áreas selváticas o remotas, que conduce a la degradación del ARN viral en las muestras, volviendo ineficaz la RT-PCR clásica. A esto se suma la complejidad biológica, ya que especies centinela críticas para la vigilancia urbana, como los títiés (*Callithrix*), pueden presentar viremias bajas o menos evidentes, escapando al límite de detección de las pruebas convencionales⁽¹⁴⁾, lo que subraya la necesidad de adoptar herramientas moleculares de alta sensibilidad y especificidad para un monitoreo efectivo y oportuno. Es precisamente en estos casos, donde la PCR digital (dPCR) o las técnicas de secuenciación de alto rendimiento (metagenómica) ofrecen una sensibilidad y precisión superiores para la vigilancia epizootica.

Los datos recientes confirman un repunte de fiebre amarilla en América Latina. En 2024 se confirmaron 61 casos humanos en la Región (30 letales) distribuidos en Bolivia, Brasil, Colombia, Guyana y Perú⁽¹⁶⁾. A principios de 2025, la OPS/OMS reportó 212 casos y 85 muertes (CFR ~ 40 %) en cinco países (Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y Perú), triplicando los casos de 2024⁽²²⁾. Tanto Brasil (110 casos, 44 muertes) y Colombia (60 casos, 24 muertes) concentraron ~ 80 % de los casos⁽²²⁾. Lo que llama la atención es que en 2025 la transmisión se desplazó fuera de la Amazonía tradicional: se registraron brotes en zonas rurales de São Paulo (Brasil) y Tolima (Colombia)⁽¹⁶⁾. El brote de Tolima (37 casos, 15 muertes, CFR 40 %) ocurrió en área selvática, sin casos urbanos confirmados⁽¹⁶⁾. Ver Figura 2.

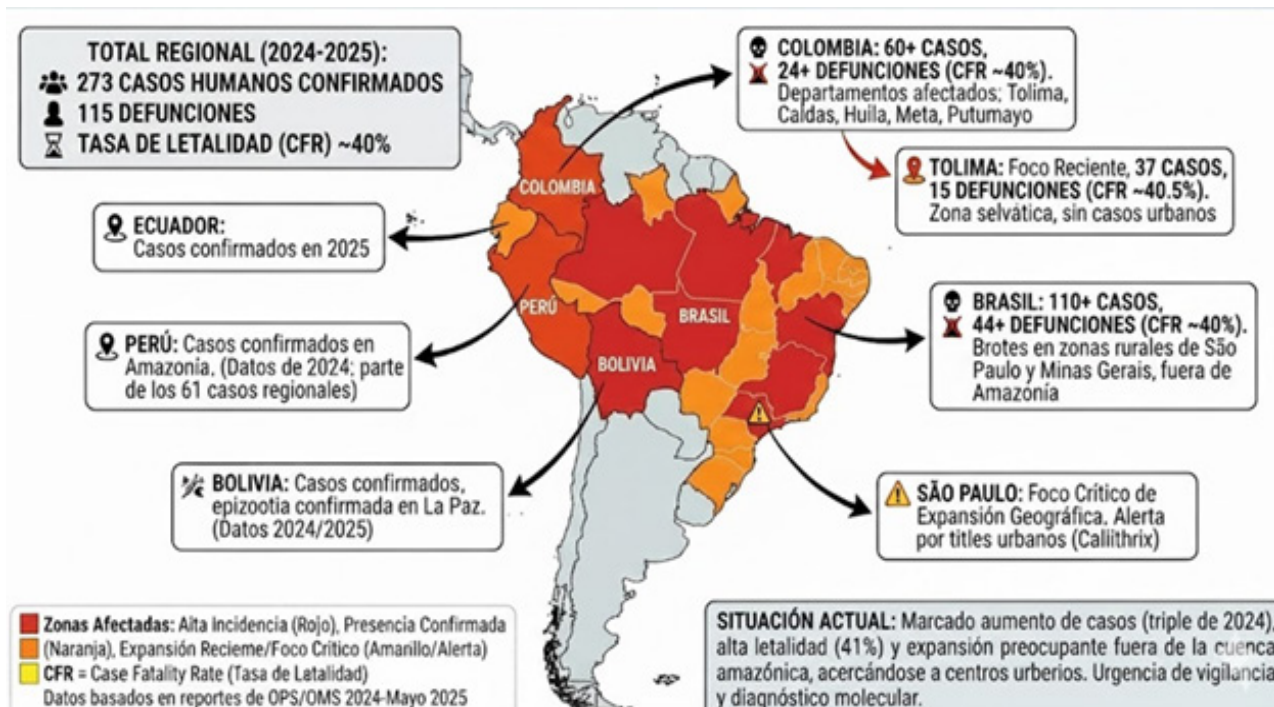


Figura 2. Mapa de situación actual del resurgimiento de la fiebre amarilla en América del sur (2024-2025). Imagen de diseño propio, elaborado mediante el uso de Gemini IA

Estos cambios exigen reforzar la vigilancia diagnóstica. La aparición de fiebre amarilla fuera de áreas endémicas y en múltiples fronteras resalta la importancia de la coordinación regional. La OMS enfatiza la vigilancia activa, el diagnóstico oportuno y el intercambio transfronterizo de información⁽²²⁾. En la práctica, la contención de estos casos no solo implica

implementar estrategias de vacunación focales en poblaciones vulnerables, sino que se debe integrar la vigilancia sindrómica con la confirmación laboratorial rápida de casos sospechosos. Para este fin existen distintas herramientas diagnósticas clásicas y muchas otras innovadoras que se describen a continuación:

3. Pruebas diagnósticas para la confirmación de casos de fiebre amarilla.

En la actualidad muchos países realizan la confirmación de casos de fiebre amarilla mediante criterios que requieren tanto la identificación del virus por métodos moleculares o la exposición al virus determinada por procedimientos serológicos^{(23), (24)}.

3.1 Serología (IgM e IgG)

La detección de anticuerpos de inmunoglobulina M (IgM) contra el virus de la fiebre amarilla es una herramienta de diagnóstico importante^{(25), (26)}. Los anticuerpos IgM contra la fiebre amarilla pueden detectarse tanto en el suero de individuos enfermos cuatro días antes que los IgG⁽²⁷⁾ con una alta especificidad⁽²⁸⁾, como a nivel intratecal en algunos casos⁽²⁹⁾. Se han desarrollado diversos métodos para detectar los anticuerpos IgM, incluyendo ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)^(28,26) y de inmunofluorescencia indirecta (IFI); sin embargo, aunque estas últimas han logrado mejorar la especificidad de la IgM en ciertos contextos, estudios señalan que estos anticuerpos pueden que no se presentan de manera consistente en todos los pacientes⁽³⁰⁾.

Esta intermitencia serológica deja brechas diagnósticas que solo la detección directa del genoma viral puede cerrar con seguridad.

La interpretación de la IgM como marcador inequívoco de infección aguda se ve gravemente comprometida por el fenómeno de la persistencia postvacunal. Evidencia reciente demuestra que la duración de la respuesta IgM es significativamente más prolongada de lo que se estimaba clásicamente. Un estudio de cohorte reveló que el 73 % de los individuos vacunados mantuvieron positividad para IgM entre tres y cuatro años después de la inmunización. Curiosamente, esta persistencia se correlacionó con una viremia postvacunal temprana y títulos neutralizantes elevados, sugiriendo que una respuesta inmune robusta prolonga la detectabilidad de la IgM⁽³¹⁾.

Esto plantea un desafío crítico en la práctica clínica: en un paciente febril con antecedentes de vacunación (incluso remota), un resultado IgM positivo puede reflejar una memoria inmunológica en lugar de una infección activa o reciente. Incluso algunos estudios refieren que, el desarrollo de anticuerpos IgM puede ser un indicador de transmisión activa de la fiebre amarilla en una población⁽³²⁾. Este hallazgo descalifica a la serología IgM como herramienta única de confirmación en áreas con alta cobertura vacunal y subraya la necesidad imperativa de métodos moleculares directos (como RT-LAMP o dPCR) que discriminen la presencia viral activa de la huella serológica histórica.

Por ello, para considerar una serología frente a fiebre amarilla confirmatoria, se requiere la detección de IgM específica en ausencia de vacunación reciente y diagnóstico negativo de anticuerpos IgM para otros flavivirus⁽³³⁾ ya que se ha reportado una alta reactividad cruzada con dengue y zika especialmente en individuos previamente infectados o vacunados⁽³⁴⁾, aunque es preciso diferenciar que, cuando se ha estudiado el comportamiento de la IgG, el impacto ha sido mínimo en la reactividad cruzada.⁽³⁵⁾ Por ello la OMS refiere que en entornos con cocirculación de flavivirus, un resultado IgM positivo aislado es sólo indicativo y debe confirmarse. Se recomienda verificar seroconversión (doble muestra aguda y convaleciente con diferencia ≥ 4 semanas) y descartar respuesta inmune a

otros flavivirus⁽³⁴⁾. Además, la vacunación reciente contra la fiebre amarilla induce anticuerpos IgM que pueden persistir meses o incluso años, provocando falsos positivos en laboratorios^(34,36).

En epizootias de fiebre amarilla en primates no humanos, la serología IgM/IgG se usa sobre todo para evidencia de exposición pasada o reciente, pero tiene limitaciones por reactividad cruzada y por el hecho de que muchos animales se detectan posmortem⁽³⁷⁾. Los anticuerpos IgM anti - fiebre amarilla en primates aparecen pocos días tras la infección y suelen ser detectables hasta unos tres meses, lo que indica infección reciente si el animal está vivo o si el suero se obtiene poco después de la muerte⁽¹⁴⁾. En las epizootias, la confirmación de fiebre amarilla en primates suele basarse principalmente en RT-qPCR, histopatología e inmunohistoquímica, usando IgM/IgG más como complemento epidemiológico y para estudios de circulación que como única base diagnóstica⁽¹⁷⁾.

3.2 RT-PCR clásica y en tiempo real

La RT-PCR es la técnica de elección para la confirmación rápida de fiebre amarilla, ya que detecta directamente el ARN viral⁽³⁸⁾. Según las guías de la OMS, un resultado positivo de RT-PCR (bien controlada) confirma la infección por fiebre amarilla⁽³⁴⁾. La ventana diagnóstica para PCR es temprana: su sensibilidad es máxima durante los primeros 10 días desde el comienzo de síntomas y puede extenderse hasta en promedio 14 días en casos graves⁽³⁴⁾. Después de este período la viremia decae y la PCR puede volverse negativa. En la práctica, se usa RT-qPCR validada en laboratorios de referencia, dado que requiere equipamiento especializado y se ve limitada por la corta ventana viral. Por ello se utiliza para confirmar casos agudos, mientras que la serología apoya el diagnóstico tardío.

Existen kits comerciales de RT-PCR para la fiebre amarilla que han sido evaluados para la detección de cepas del virus salvaje 39. La detección de fiebre amarilla por RT-PCR ha sido útil en la vigilancia de eventos adversos relacionados con vacunas y epizootias⁽⁴⁰⁾. La qPCR también se ha desarrollado para la detección simultánea del virus del dengue y el virus de fiebre amarilla⁽⁴¹⁾.

4. Tecnologías moleculares emergentes

4.1 PCR digital (dPCR)

La PCR digital (dPCR) es una variante que particiona la muestra en miles de microvolúmenes, permitiendo una cuantificación absoluta de ARN viral. Su principal ventaja es la sensibilidad: puede detectar cargas virales muy bajas que escaparían a la RT-qPCR convencional. Por ejemplo, estudios en SARS-CoV-2 mostraron que la dPCR identificó casos con carga viral escasa no detectados por RT-PCR estándar⁽⁴²⁾.

La PCR digital (dPCR), incluida la PCR digital de gotas (ddPCR)⁽⁴³⁾, es una técnica que se ha investigado para la detección del virus de la fiebre amarilla y virus relacionados⁽⁴⁴⁾. La dPCR, al ser una técnica de cuantificación absoluta, podría ofrecer una mayor precisión que la RT-qPCR y una mayor sensibilidad para detectar ese ARN viral en muestras con cargas virales muy bajas⁽³⁸⁾.

La alta sensibilidad de la PCR digital que ofrece para otras enfermedades, como el síndrome de fiebre grave con trombocitopenia y la encefalitis japonesa^(45,46) permite predecir la elevada utilidad de la técnica. Sin embargo, aunque la ddPCR ha demostrado ser útil para validar vacunas contra la fiebre del Valle del Rift y cuantificar serotipos de dengue, su sensibilidad

para la detección del material genético del virus chikungunya ha sido baja en comparación con otras tecnologías, y es más costosa⁽⁴⁷⁾. Por ello, actualmente todavía se utiliza la PCR digital para propósitos específicos distintos del diagnóstico clínico⁴⁸; sin embargo, se proyecta que en 2032 el mercado incrementará con lo que los precios de consumibles disminuirán y esta tecnología estará más al alcance del diagnóstico clínico⁽⁴⁹⁾.

En el caso de fiebre amarilla, la dPCR podría mejorar la detección en muestras con viremias incipientes o decrecientes como las que se presentan en epizootias en primates del género *Callithrix*; sin embargo, su implementación exige equipo especializado y es más costosa, por lo que actualmente se reserva para laboratorios de alta complejidad o investigación. En un futuro próximo, su uso debe extenderse para casos graves o para cuantificar carga viral.

4.2 RT-LAMP (amplificación isotérmica)

La RT-LAMP combina transcripción inversa con amplificación isotérmica y ofrece diagnóstico molecular rápido y sencillo. Los primeros ensayos desarrollados para fiebre amarilla demostraron que la RT-LAMP puede dar resultados en menos de una hora usando un equipo portátil a 62 °C. En esos estudios, la sensibilidad fue comparable o incluso superior a la RT-PCR: se alcanzó un límite de detección de aproximadamente 0,29 PFU/mL (casi 10 veces más sensible que RT-PCR) en muestras de suero ensayadas con una especificidad muy alta. Aunque su rendimiento es menor con otros flavivirus como DENV1-4, JEV, WNV⁽⁵⁰⁾ otros estudios reportan una sensibilidad y especificidad del 100 % en comparación con la RT-qPCR, con un límite de detección de 12 UFP/ml⁽⁵¹⁾. Esta metodología, particularmente la RT-LAMP, ofrece un enfoque rápido, sensible, específico y de bajo costo para la detección del genoma del fiebre amarilla. Se ha demostrado que la RT-LAMP es una herramienta de diagnóstico fiable y rápido para la fiebre amarilla. Además de la fiebre amarilla, LAMP y RT-LAMP se han empleado para diagnosticar otras enfermedades causadas por arbovirus como el dengue⁽⁵²⁾, el Chikungunya⁽⁵³⁾. La técnica LAMP también se ha utilizado para detectar otros virus como el virus de la encefalitis japonesa 54, el virus de la peste porcina africana⁽⁵⁵⁾, el virus del Zika 56, entre otros 57,58. La RT-LAMP puede ser útil para la vigilancia del fiebre amarilla en el campo⁽⁵⁹⁾ y es capaz de detectar esta infección en muestras de primates no humanos, lo que permite la identificación temprana de la circulación viral 51. Esta técnica tiene una sensibilidad similar a los métodos de detección basados en RT-PCR convencionales⁽⁶⁰⁾.

En cuanto a su utilidad durante epizootias, tanto IgM como IgG pueden mostrar reactividad cruzada, por lo que se recomienda confirmación mediante PRNT o pruebas moleculares (RT-qPCR/RT-LAMP) en tejidos de animales hallados muertos⁽⁵¹⁾. De este modo, por su carácter integrador y no requerir termociclador sofisticado, la RT-LAMP resulta atractiva para uso en campo o laboratorios con recursos limitados. Sin embargo, depende de

primers muy específicos y aún requiere validación adicional en diferentes genotipos. En conjunto, RT-LAMP ofrece rapidez y portabilidad sin perder demasiado en precisión, lo que puede beneficiar la vigilancia en zonas remotas como las que caracteriza a las áreas de transmisión selvática del virus.

4.3 CRISPR-dx (SHERLOCK, DETECTR)

La tecnología de CRISPR/Cas ha logrado la edición genómica en el mosquito de la fiebre amarilla, *Aedes aegypti* CON CAS 9^(61,62) pero su utilidad no se limita a ese ámbito. Las plataformas CRISPR de diagnóstico como SHERLOCK basado en Cas13 o DETECTR en Cas12, son otra tendencia emergente. Funcionan con amplificación previa del ARN viral y posterior detección usando nucleasas Cas programables con alta especificidad de secuencia comparables a las de los métodos tradicionales basados en PCR, pero no requieren equipos sofisticados y tienen un coste estimado muy bajo⁽⁶³⁾. Aunque aún se encuentran en etapas iniciales para fiebre amarilla, ya se han adaptado para arbovirus cercanos. Por ejemplo, SHERLOCK v.1 detectó virus Zika y dengue con umbrales de femtomolar de ARN⁽⁶⁴⁾. Estas técnicas suelen ser rápidas, baratas y capaces de multiplexar varios patógenos al mismo tiempo. Se prevé que CRISPR-dx aporte diagnósticos ultrarrápidos; su fácil reprogramación lo hacen muy prometedor para futuras pruebas moleculares⁽⁶⁴⁾.

4.4 Secuenciación de nueva generación (NGS) y metagenómica

La secuenciación masiva (NGS) es la estrategia más poderosa disponible en la actualidad y ha demostrado su potencial práctico. En 2018, la secuenciación metagenómica realizada en un estudio en Nigeria reveló que un grupo de pacientes febriles no diagnosticados tenía infección por fiebre amarilla. El ARN viral se detectó de forma independiente en sangre de 29/50 casos, confirmando un brote⁽⁶⁵⁾. El ensamblado de genomas completo permitió analizar su filogenia, demostrando que la cepa estaba relacionada con linajes de África Occidental y no descendía de aislados históricos nigerianos⁽⁶⁵⁾. Así se confirmó rápidamente la etiología y origen del brote, guiando la respuesta de salud pública. De modo similar, NGS se empleó en Brasil para seguir la expansión del brote 2016 – 2018 donde se obtuvieron decenas de genomas completos (incluyendo secuenciación portátil MinION) que trazaron la difusión silvestre del virus y descartaron reacciones a la vacuna como causa⁽⁶⁶⁾. En otro estudio, los casos sospechosos en pacientes venezolanos resultaron ser infecciones naturales, no reactivación de vacuna⁽⁶⁶⁾. En resumen, la NGS/metagenómica permite descubrir casos atípicos, caracterizar cepas circulantes y diferenciar virus salvajes de cepas vacunales. Su gran limitación actual es el costo y complejidad del equipo y análisis, por lo que se restringe a centros especializados. No obstante, en vigilancia genómica, NGS ofrece una visión integral para predecir rutas de transmisión y evolución viral.

Tabla1. Técnicas para el diagnóstico de fiebre amarilla, ventajas y limitaciones y aplicabilidad.

Técnica	Ventajas	Limitaciones	Aplicabilidad
Serología (IgM/IgG)	Económica, disponible	Reactividad cruzada, baja especificidad	Laboratorios de primer nivel
RT-PCR	Alta especificidad, rápida confirmación	Ventana corta de viremia, requiere equipos	Laboratorios de referencia
PCR digital	Alta sensibilidad, cuantificación exacta	Costosa, poco disponible	Investigación y referencia
RT-LAMP	Rápida, portátil, sensible	Validación pendiente, posible ruido de fondo	Entornos rurales y campo
CRISPR-dx	Específica, adaptable, formato simple	Aún experimental, necesita amplificación	Diagnóstico rápido en campo (futuro)
NGS/metagenómica	Sin hipótesis previa, análisis filogenético	Costosa, compleja, lenta	Vigilancia y genómica de brote

Discusión:

El potencial de las pruebas descritas en la presente revisión para su empleo en el diagnóstico de fiebre amarilla es promisorio. A la luz de la evidencia presentada queda pendiente el desarrollar algoritmos diagnósticos integrados para esta enfermedad. Una propuesta puede incluir realizar RT-PCR o LAMP inmediato en casos agudos, seguido de serología confirmatoria en fase tardía, y emplear NGS en brotes inexplicados. Sin embargo, se debe evaluar cada metodología considerando su variación en costos, infraestructura y rapidez (tabla 1). Todas las metodologías son adaptables al diagnóstico de fiebre amarilla; sin embargo, la RT-PCR exige laboratorio equipado y reactivos con precios moderadamente elevados, LAMP/CRISPR busca reducir equipamiento a costa de validar su precisión y NGS demanda inversión alta pero ofrece máximo nivel informativo. En entornos de alta complejidad, las técnicas moleculares (RT-PCR, NGS) son viables; en entornos rurales, pruebas portátiles (LAMP/CRISPR) pueden ser más prácticas.

La transición hacia tecnologías de diagnóstico avanzadas exige una agenda de investigación y validación regional concertada. Los programas de salud pública en la región deben priorizar el fortalecimiento de la red de laboratorios de referencia. Un ejemplo paradigmático de esta integración exitosa se observó en Brasil durante el rebrote de 2017 - 2018. En este evento, la Fundación Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), el Instituto Evandro Chagas, la Universidad de São Paulo y los laboratorios estatales de salud pública (LACENS) colaboraron para implementar protocolos de secuenciación portátiles con tecnología de nanoporos. Esta rápida respuesta permitió el análisis genómico de muestras clínicas de pacientes y primates no humanos de áreas forestales afectadas en Minas Gerais, São Paulo y Río de Janeiro, demostrando el potencial de las alianzas entre la academia y la salud pública para la vigilancia genómica en tiempo real⁽⁶⁷⁾.

Una de las principales limitaciones de esta revisión es que no se proporciona un algoritmo diagnóstico detallado que integre las diversas tecnologías analizadas a la luz de los datos presentados. Si bien la creación de dicho algoritmo no constituyó el objetivo primario de la presente revisión, se reconoce la necesidad de cerrar esta brecha metodológica. Se espera que futuras investigaciones se centren exclusivamente en desarrollar y validar un algoritmo diagnóstico integrado que combine detección molecular precoz seguida de confirmación serológica o secuenciación para un panorama integral.

Finalmente, es indispensable incrementar la cobertura de vacunación y mejorar la comunicación del riesgo entre la población, lo que complementa la labor diagnóstica. La OPS/OMS subraya la coordinación entre países vecinos y la respuesta rápida frente a reemergencias son fundamentales frente al incremento de fiebre amarilla⁽²²⁾.

7. Conclusiones

La modernización del diagnóstico de fiebre amarilla es una necesidad. Las técnicas moleculares avanzadas ofrecen mayor sensibilidad, especificidad y velocidad que los métodos clásicos, lo que puede traducirse en detección más temprana de casos y mejor caracterización de brotes. En América Latina existe urgencia por actualizar las redes diagnósticas, capacitar laboratorios regionales en tecnologías moleculares emergentes y optimizar flujos de trabajo para mejorar la vigilancia epidemiológica y responder oportunamente ante incrementos como lo suscitados en los últimos años.

Conflicto de intereses: El autor declara no tener conflictos de interés

Financiamiento: Autofinanciado.

Contribución de autoría: Conceptualización, investigación, curación de datos, redacción del borrador original, diseño y elaboración de tablas y gráficos, revisión crítica y aprobación final del manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Simon LV, Hashmi MF, Torp KD. Yellow fever. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470425/>
2. Requena-Zuñiga E, Cano ME, Micieli MV, Marti GA, Leon-Cueto Walter, Cáceres AG. Geographical distribution of mosquitoes of the genera *Haemagogus* and *Sabethes* (Diptera: Culicidae), potential vectors of the Yellow fever virus in Peru. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* [Internet]. 2024 [citado el 2 de enero de 2026];83(2):81-86. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/257387>
3. Fiebre amarilla - ops/oms | organización panamericana de la salud [Internet]. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/fiebre-amarilla>
4. Villamil M. Alerta por fiebre amarilla: Tolima suma 31 muertes y el virus se expande por al menos siete departamentos [Internet]. *infobae*. 2025 [citado 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.infobae.com/colombia/2025/06/14/alerta-por-fiebre-amarilla-tolima-suma-31-muertes-y-el-virus-se-expande-por-al-menos-siete-departamentos/>
5. Cuevas C. Los países de Latam donde se registran más casos de muerte por fiebre amarilla en 2025 [Internet]. *Bloomberg Línea*. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.bloomberglinea.com/latinoamerica/los-paises-de-latam-donde-se-registran-mas-casos-de-muerte-por-fiebre-amarilla-en-2025/>
6. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica Fiebre amarilla en la Región de las Américas [Internet]. Washington, D.C.; 2025. Disponible en: <https://www.paho.org/sites/default/files/2025-05/2025-mayo-31-phe-alerta-epidemiologica-fiebre-amarilla-final.pdf>
7. Organización Mundial de la Salud. Fiebre amarilla [Internet]. 2025 [citado 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever>
8. Ministerio de Salud. Protocolos de Vigilancia Epidemiológica – Parte I [Internet]. Lima: Oficina General de Epidemiología, MINSA [Citado el 2 de enero del 2026]. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/buho/buho_famarilla.pdf
9. Panamerican Health Organization. Yellow fever [Internet]. 2025 [citado 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.paho.org/en/topics/yellow-fever>
10. Stiasny K, Malafa S, Aberle SW, Medits I, Tsouchnikas G, Aberle JH, et al. Different cross-reactivities of igm responses in dengue, zika and tick-borne encephalitis virus infections. *Viruses*. 2021;13(4):596. doi: 10.3390/v13040596.
11. Fischer C, Torres MC, Patel P, Moreira-Soto A, Gould EA, Charrel RN, et al. Lineage-specific real-time rt-pcr for yellow fever virus

outbreak surveillance, brazil. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(11):1867-71. doi: 10.3201/eid2311.171131.

12. Center for Disease Control and Prevention. CDC. Clinical features and diagnosis of yellow fever [Internet]. Yellow Fever Virus. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/yellow-fever/hcp/clinical-diagnosis/index.html>

13. Nwaiwu AU, Musekiwa A, Tamuzi JL, Sambala EZ, Nyasulu PS. The incidence and mortality of yellow fever in Africa: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2021;21:1089. doi: 10.1186/s12879-021-06728-x.

14. Nederlof RA, Virgilio T, Stenkens HJJ, da Silva LCCP, Montagna DR, Abdussamad AM, et al. Yellow fever in non-human primates: a veterinary guide from a one health perspective. *Vet Sci.* 6 de abril de 2025;12(4):339. doi: 10.3390/vetsci12040339

15. Fila AO, Durán Morera N, Rosabal Ferrer LE. Actualización sobre fiebre amarilla en el contexto de la reemergencia de la enfermedad. *Rev Cubana Salud Pública* [Internet]. 2021 [citado el 2 de enero de 2026];47(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-34662021000300015&lng=es&nrm=iso&tlng=es

16. Angerami RN, Socorro Souza Chaves TD, Rodríguez-Morales AJ. Yellow fever outbreaks in South America: Current epidemiology, legacies of the recent past and perspectives for the near future. *New Microbes New Infect.* 2025;65:101580. doi: 10.1016/j.nmni.2025.101580

17. de Azevedo Fernandes NCC, Guerra JM, Díaz-Delgado J, Cunha MS, Saad L de LC, Iglezias SD, et al. Differential yellow fever susceptibility in new world nonhuman primates, comparison with humans, and implications for surveillance. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(1):47-56. doi: 10.3201/eid2701.191220

18. Srivastava S, Dhoundiyal S, Kumar S, Kaur A, Khatib MN, Gaidhane S, et al. Yellow fever: global impact, epidemiology, pathogenesis, and integrated prevention approaches. *Infez Med.* 2024;32(4):434-50. doi: 10.53854/liim-3204-3

19. Lima Siconelli MJ, de Almeida Dias JC, Machado EF, Sequetin Cunha M, de Azevedo Fernandes NC. New evidence that *Callithrix* spp. is assuming an important role in the epidemiology of yellow fever virus. *medrxiv.org*; 2025. doi: 10.1101/2025.09.07.25335112

20. Arellano A. Muerte de más de mil primates por fiebre amarilla en Sudamérica enciende alertas de autoridades sanitarias y ambientales [Internet]. Noticias ambientales. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://es.mongabay.com/2025/06/fiebre-amarilla-primates-comienzan-a-morir-por-contagios-en-tres-paises-de-sudamerica/>

20. Arellano A. Muerte de más de mil primates por fiebre amarilla en Sudamérica enciende alertas de autoridades sanitarias y ambientales [Internet]. Noticias ambientales. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://es.mongabay.com/2025/06/fiebre-amarilla-primates-comienzan-a-morir-por-contagios-en-tres-paises-de-sudamerica/>

21. CDC Perú. CDC Perú inicia implementación de piloto de vigilancia de epizootias en primates no humanos por fiebre amarilla en la región San Martín [Internet]. Centro Nacional de Epidemiología Prevención y Control de Enfermedades. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/informacion-publica/prensa/cdc-peru-inicia-implementacion-de-piloto-de-vigilancia-de-epizootias-en-primates-no-humanos-por-fiebre-amarilla-en-la-region-san-martin/>

22. World Health Organization. Yellow fever - region of the americas [Internet]. 2025 [citado el 2 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/disease->

[outbreak-news/item/2025-DON570](https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2025-DON570)

23. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades (CDC). Norma Técnica de Salud Para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico de Laboratorio de Dengue, Chikungunya, Zika y Otras Arbovirosis en el Perú [Internet]. Lima, Perú: Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades (CDC); 2019 [Citado el 2 de enero del 2026]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/315148/Norma_t%C3%A9cnica_de_salud_para_la_vigilancia_epidemiol%C3%B3gica_Y_diagn%C3%B3stico_de_laboratorio_de_dengue_chikungunya_zika_y_otras_arbovirosis_en_el_Per%C3%BA20190521-6322-6qk.htm.pdf?v=1558473380

24. Caicedo Medina CA, Acevedo González CA, Lizarazo Lozano FE, Quinche Vargas GG, Mojica Madera JA, Pérez Carrillo LJ, et al. Lineamiento para la atención clínica integral de la Fiebre Amarilla en Colombia [Internet]. Colombia; 2025 [Citado el 2 de enero del 2026]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/lineamiento-atencion-clinica-integral-fiebre-amarilla-2024.pdf>

25. Niedrig M, Kürsteiner O, Herzog C, Sonnenberg K. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay for detection of immunoglobulin m (Igm) and igg antibodies against yellow fever virus. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15(2):177-81. doi: 10.1128/CI.00078-07.

26. Adungo F, Yu F, Kamau D, Inoue S, Hayasaka D, Posadas-Herrera G, et al. Development and characterization of monoclonal antibodies to yellow fever virus and application in antigen detection and igm capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Hodinka RL, editor. Clin Vaccine Immunol.* 2016;23(8):689-97. doi: 10.1128/CI.00209-16.

27. Monath TPC. Neutralizing antibody responses in the major immunoglobulin classes to yellow fever 17d vaccination of humans. *American Journal of Epidemiology.* 1971;93(2):122-9. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a121232

28. Vázquez S, Valdés O, Pupo M, Delgado I, Álvarez M, Pelegrino JL, et al. MAC-ELISA and ELISA inhibition methods for detection of antibodies after yellow fever vaccination. *Journal of Virological Methods* [Internet]. 2003;110(2):179-84. doi: 10.1016/S0166-0934(03)00128-9

29. Pires-Marczeski FC, Martinez VP, Nemirovsky C, Padula PJ. Intrathecal antibody production in two cases of yellow fever vaccine associated neurotropic disease in Argentina. *Journal of Medical Virology.* 2011;83(12):2208-12. doi: 10.1002/jmv.22236

30. Monath TP, Cropp CB, Muth DJ, Calisher CH. Indirect fluorescent antibody test for the diagnosis of yellow fever. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 1981;75(2):282-6. doi: 10.1016/0035-9203(81)90335-7

31. Gibney KB, Edupuganti S, Panella AJ, Kosoy OI, Delorey MJ, Lanciotti RS, et al. Detection of anti-yellow fever virus immunoglobulin m antibodies at 3–4 years following yellow fever vaccination. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;87(6):1112-5. doi: 10.4269/ajtmh.2012.12-0182

32. Omilabu SA, Adejumo JO, Olaleye OD, Fagbami AH, Baba SS. Yellow fever haemagglutination-inhibiting, neutralising and IgM antibodies in vaccinated and unvaccinated residents of Ibadan, Nigeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 1990;13(2):95-100. doi: 10.1016/0147-9571(90)90521-T

33. Domingo C, Charrel RN, Schmidt-Chanasit J, Zeller H, Reusken C. Yellow fever in the diagnostics laboratory. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):129. doi: 10.1038/s41426-018-0128-8

34. Pan American Health Organization (PAHO). Laboratory diagnosis of yellow fever virus infection [Internet]. 2018 [Citado el 2 de enero del 2026]. Disponible en: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/inaugural-who-partners-forum/laboratory-diagnosis-yellow-fever-infection-sep-2018fa192479-3fff-47a3-9cc7-a39d4da55bba.pdf?sfvrsn=907f5db_1#:~:text=used%20%287%2C%209%29.%20Significant%20cross,Laboratory%20confirmation%20requires%20demonstration%20of
35. Souza NCSE, Félix AC, de Paula AV, Levi JE, Pannuti CS, Romano CM. Evaluation of serological cross-reactivity between yellow fever and other flaviviruses. *Int J Infect Dis.* 2019;81:4-5. doi: 10.1016/j.ijid.2019.01.023
36. Feroldi DE, Mulligan PMJ, Talaat DK, Tan DCS, Paolino DK, Edupuganti PS, et al. Persistence of the neutralizing antibody response one year after a single injection of a new Yellow fever vaccine in adults. *International Journal of Infectious Diseases.* 2025;152:107447. doi: 10.1016/j.ijid.2024.107447
37. Salas-Rojas M, de Oliveira-Filho EF, Almazán-Marín C, Rodas-Martínez AZ, Aguilar-Setién Á, Drexler JF. Serological evidence for potential yellow fever virus infection in non-human primates, southeastern Mexico. *One Health Outlook.* 24 de octubre de 2023;5(1):14. doi: 10.1186/s42522-023-00090-5
38. Bae HG, Nitsche A, Teichmann A, Biel SS, Niedrig M. Detection of yellow fever virus: a comparison of quantitative real-time PCR and plaque assay. *Journal of Virological Methods.* 2003;110(2):185-91. doi: 10.1016/S0166-0934(03)00129-0
39. Basile AJ, Niedrig M, Lambert AJ, Meurant R, Brault AC, Domingo C, et al. Laboratory evaluation of RealStar Yellow Fever Virus RT-PCR kit 1.0 for potential use in the global yellow fever laboratory network. *PLOS Neglected Tropical Diseases.* 2022;16(9):e0010770. doi: 10.1371/journal.pntd.0010770
40. Queiroz ALN, Barros RS, Silva SP, Rodrigues DSG, Cruz ACR, Dos Santos FB, et al. The usefulness of a duplex rt-qpcr during the recent yellow fever brazilian epidemic: surveillance of vaccine adverse events, epizootics and vectors. *Pathogens.* 2021;10(6):693. doi: 10.3390/pathogens10060693
41. Rojas A, Diagne CT, Stittleburg VD, Mohamed-Hadley A, de Guillén YA, Balmaseda A, et al. Internally controlled, multiplex real-time reverse transcription pcr for dengue virus and yellow fever virus detection. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;98(6):1833-6. doi: 10.4269/ajtmh.18-0024
42. Poggio P, Songia P, Vavassori C, Ricci V, Banfi C, Barbieri SS, et al. Digital PCR for high sensitivity viral detection in false-negative SARS-CoV-2 patients. *Sci Rep.* 2021;11(1):4310. doi: 10.1038/s41598-021-83723-x
43. Nazir S. Medical diagnostic value of digital PCR (dPCR): A systematic review. *Biomedical Engineering Advances.* 2023;6. Doi: 10.1016/j.bea.2023.100092
44. Navarro Sanchez ME, Devard N, Houy C, Abachin E, Godard S, Esson R, et al. Multiplex reverse transcriptase droplet digital PCR for the simultaneous quantification of four dengue serotypes: Proof of concept study. *Biologicals.* 2020;67:62-8. doi: 10.1016/j.biologicals.2020.06.001.
45. Zhang Y, Tian W, Zhang S, Lin L, Song C, Liu Y, et al. Enhancing sensitivity in detecting severe fever with thrombocytopenia syndrome virus: development of a reverse transcription-droplet digital polymerase chain reaction. *J Infect Dis.* 2025;231(2):512-20. doi: 10.1093/infdis/jiae442.
46. Wu X, Lin H, Chen S, Xiao L, Yang M, An W, et al. Development and application of a reverse transcriptase droplet digital PCR (RT-ddPCR) for sensitive and rapid detection of Japanese encephalitis virus. *Journal of Virological Methods.* 2017;248:166-71. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.06.015
47. Ly HJ, Lokugamage N, Ikegami T. Application of droplet digital pcr to validate rift valley fever vaccines. En: Thomas S, editor. *Vaccine Design: Methods and Protocols: Volume 1: Vaccines for Human Diseases.* New York, NY: Springer; 2016;p.207-20. doi: 10.1007/978-1-4939-3387-7_10.
48. Alves D, Lopes B. Sensitivity and detection of chikungunya viral genetic material using several PCR-based approaches. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2017;50 (04) doi: 10.1590/0037-8682-0403-2016
49. Pawar S. Global Digital Polymerase Chain Reaction (PCR) Market Size, Share, and Trends Analysis Report – Industry Overview and Forecast to 2032. Data bridge market research [Internet]. 2024 [citado el 3 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.databridgemarketresearch.com/reports/global-digital-pcr-market>
50. Kwallah A ole, Inoue S, Muigai AWT, Kubo T, Sang R, Morita K, et al. A real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid detection of yellow fever virus. *J Virol Methods.* 2013;193(1):23-7. doi: 10.1016/j.jviromet.2013.05.004
51. Cardoso SF, Yoshikawa AAG, Pinheiro IC, Granella LW, Couto-Lima D, Neves MSAS, et al. Development and validation of RT-LAMP for detecting yellow fever virus in non-human primates samples from Brazil. *Sci Rep.* 2024;14(1):22520. doi: 10.1038/s41598-024-74020-4
52. Gaber M, Ahmad AA, El-Kady AM, Tolba M, Suzuki Y, Mohammed SM, et al. Dengue fever as a reemerging disease in upper Egypt: Diagnosis, vector surveillance and genetic diversity using RT-LAMP assay. *PLOS ONE.* 2022;17(5):e0265760. doi: 10.1371/journal.pone.0265760
53. Bolívar Flórez JV. Estandarización de la prueba RT-LAMP para la detección del virus del Chikungunya [Tesis de pregrado]. Bogotá: Facultad de Microbiología, Universidad de los Andes. 2023; Disponible en: <https://hdl.handle.net/1992/68832>
54. Tian CJ, Lin ZX, He XM, Luo Q, Luo CB, Yu HQ, et al. Development of a fluorescent-intercalating-dye-based reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of seasonal Japanese B encephalitis outbreaks in pigs. *Arch Virol.* 2012;157(8):1481-8. doi: 10.1007/s00705-012-1330-y
55. Wang D, Yu J, Wang Y, Zhang M, Li P, Liu M, et al. Development of a real-time loop-mediated isothermal amplification (Lamp) assay and visual LAMP assay for detection of African swine fever virus (Asfv). *Journal of Virological Methods.* 2020;276:113775. Doi: 10.1016/j.jviromet.2019.113775
56. Silva SJR da, Pardee K, Pena L. Loop-mediated isothermal amplification (Lamp) for the diagnosis of zika virus: a review. *Viruses.* 2019;12(1):19. 10.3390/v12010019
57. Xia H, Zhao N, Zhao L, Wang Y, Zhao W, Yuan Z. Rapid detection of Banna virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (Rt-lamp). *International Journal of Infectious Diseases.* 2019;78:93-8. Doi: 10.1016/j.ijid.2018.10.025
58. Khunthong S, Jaroenram W, Arunrut N, Suebsing R, Mungsantisuk I, Kiatpathomchai W. Rapid and sensitive detection of shrimp yellow head virus by loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. *Journal of Virological Methods.* 2013;188(1):51-6. doi: 10.1016/j.jviromet.2012.11.041
59. Nunes MRT, Vianez JL, Nunes KNB, da Silva SP, Lima CPS,

Guzman H, et al. Analysis of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (Rt-lamp) for yellow fever diagnostic. *Journal of Virological Methods*. 2015;226:40-51. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.10.003

60. Baek YH, Cheon HS, Park SJ, Lloren KKS, Ahn SJ, Jeong JH, et al. Simple, rapid and sensitive portable molecular diagnosis of sfts virus using reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (Rt-lamp). 2018;28(11):1928-36. Doi: 10.4014/jmb.1806.06016

61. Shirai Y, Takahashi M, Ote M, Kanuka H, Daimon T. DIPA-CRISPR gene editing in the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). *Appl Entomol Zool*. 2023;58(3):273-8. doi: 10.1007/s13355-023-00831-y

62. Dong S, Lin J, Held NL, Clem RJ, Passarelli AL, Franz AWE. Heritable crispr/cas9-mediated genome editing in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *PLOS ONE*. 2015;10(3):e0122353. doi: 10.1371/journal.pone.0122353

63. Mustafa MI, Makhawi AM. Sherlock and detectr: crispr-cas systems as potential rapid diagnostic tools for emerging infectious diseases. Kraft CS, editor. *J Clin Microbiol*. 2021;59(3):e00745-20. Doi: 10.1128/jcm.00745-20

64. Shariq M, Khan MF, Raj R, Ahsan N, Singh R, Kumar P. CRISPR-based diagnostic approaches: Implications for rapid management of future pandemics (Review). *Mol Med Rep*. 2023;27(6):118. doi: 10.3892/mmr.2023.13005

65. Ajogbasile FV, Oguzie JU, Oluniyi PE, Eromon PE, Uwanibe JN, Mehta SB, et al. Real-time metagenomic analysis of undiagnosed