

**Reseña histórica, virología  
y ecología  
del Virus del Nilo Occidental:  
recomendaciones técnicas**

**Historical review, virology  
and ecology  
of West Nile virus:  
technical recommendations**

Eugenia Corrales-Aguilar

Ph.D en Virología, Microbióloga y Química Clínica, Virología-Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET),  
Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. [eugenia.corrales@ucr.ac.cr](mailto:eugenia.corrales@ucr.ac.cr)

Recibido:24 septiembre 2014

Aprobado:28 noviembre 2014

**Resumen**

El virus del nilo occidental (VON) representa un virus de importancia en la salud pública americana desde su introducción al hemisferio norte de este continente a finales de los años noventa. Este arbovirus se caracteriza por producir un cuadro febril y una enfermedad neuroinvasiva (encefalitis, meningitis o parálisis flácida). Debido a sus características epidemiológicas y virológicas y a la presencia de sus reservorios y vectores en nuestro país, este virus puede llegar a convertirse en una nueva enfermedad endémica en Costa Rica. Por lo tanto, es importante conocer los aspectos virológicos, clínicos, epidemiológicos y diagnósticos de este virus para estar preparados en caso de observar un aumento en la incidencia de la infección por VON. En esta revisión, se cubren aspectos clínicos, virológicos, epidemiológicos y diagnósticos relacionados a esta virosis.

**Palabras Clave:** Virus del nilo occidental, patogénesis, diagnóstico, Costa Rica

**Summary**

West Nile virus (WNV) represents an important virus for American public health since its introduction to the northern hemisphere of this continent in 1999. This arbovirus produces a febrile illness and a neuroinvasive disease (encephalitis, meningitis or flaccid paralysis).

Due to its epidemiological and virological features and the local presence of its reservoirs and vectors, WNV represents a serious menace and could become one of the next novel endemic diseases in Costa Rica. Therefore, it is important to be aware of the virological, clinical, epidemiological and diagnostic aspects regarding this virus in order to be prepared in case there is an increase in local incidence of WNV infection. In this review, the clinical, virological, epidemiological and diagnostic features associated to this virus are discussed.

**Keywords:** West Nile Virus, pathogenesis, diagnostics, Costa Rica

**Introducción**

El virus del oeste del nilo (VON) se ha vuelto un virus de importancia en salud pública en América desde su introducción al hemisferio norte de este continente en 1999 (1,2). El virus del nilo occidental ha causado los brotes de enfermedad neuroinvasiva (encefalitis, meningitis o parálisis flácida) por arbovirus ('arthropod borne virus', virus transmitidos por artrópodos por sus siglas en inglés) más extensos en los Estados Unidos hasta la fecha (1,3-5). En Costa Rica, algunos casos sospechosos de infecciones por este virus han sido observados pero aún no han sido confirmados ni publicados. Sin embargo, es

importante conocer los aspectos virológicos, clínicos, epidemiológicos y diagnósticos de este virus para estar preparados en caso de presentarse un aumento en la incidencia de la infección por VON.

### **Metodología**

Se realizó un análisis exhaustivo de la literatura utilizando las bases de datos Medline/PubMed, ELSEVIER y ScienceDirect. Los términos de búsqueda que se usaron fueron: “West Nile Virus”, “Flavivirus pathogenesis”, “WNV diagnostics”, “WNV ecology” y “WNV epidemiology”. No se limitó el idioma a la hora de los términos de búsqueda. Las fechas de búsqueda van desde 1940 cuando se publicó el descubrimiento del virus hasta el presente. Un total aproximado de 5000 artículos fueron obtenidos. Se incluyeron artículos históricos pero principalmente se analizaron y citaron aquellos relevantes de los últimos 15 años.

### **Historia y distribución mundial**

El virus del oeste del Nilo fue identificado y llamado así originalmente por Smithburn y sus colegas en 1937 cuando trabajaban en el distrito del oeste del Nilo en Uganda buscando la posible causa de la enfermedad del sueño africana (6). El suero de una paciente de 37 años que padecía de una fiebre resultó tener este virus novedoso relacionado a un virus previamente conocido como lo era el de la fiebre amarilla. El VON tiene una amplia distribución en África, el Medio Oriente, el sur de Europa, la parte occidental de Rusia, el suroeste asiático y Australia (7,8). Esta distribución tan amplia se deriva de la habilidad del virus de infectar numerosas especies de mosquitos y aves diferentes (1,9). Hasta los inicios de los 90's, brotes humanos asociados a enfermedad febril moderada fueron reportados muy esporádicamente en Israel y África (10,11). Pero desde entonces, nuevas cepas virales originadas aparentemente en África han sido detectadas y estas han causado un aumento en el número de casos en Rusia y Europa, con brotes asociados a una enfermedad un poco más severa clínicamente (10,11). En el hemisferio occidental, el VON se diseminó desde Nueva York (1999) hasta la costa pacífica en poco menos de 4 años (2003) (4,12) y en Argentina se describió en el

2005 (12). Aunque el virus se puede encontrar en aves y mosquitos de muchos países de este hemisferio, por varias razones hipotéticas sólo Estados Unidos y Canadá presentan una incidencia importante de casos (12). Entre las razones más factibles que podrían explicar los pocos casos de VON reportados en Latinoamérica encontramos que la presencia de otros flavivirus que serocruzan podrían conferir protección contra la infección por este virus o que los casos de fiebre por VON estén siendo mal clasificados como fiebres causadas por dengue (12,13).

### **Aspectos ecológicos y epidemiológicos**

El VON es mantenido en la naturaleza por un ciclo de transmisión entre pájaro-mosquito-pájaro. A pesar de haber detectado el virus en más de 65 especies diferentes de mosquito y más de 350 especies de pájaros, sólo unas pocas especies de mosquitos del género *Culex* son las responsables de su transmisión en la naturaleza y su diseminación a los seres humanos (1). Entre estas especies encontramos a *Culex pipiens*, *C. quinquefasciatus* y *C. tarsalis*. Entre los grupos de pájaros que se han encontrado positivos por el virus encontramos las aves paseriformes, que desarrollan suficiente viremia (virus en sangre) como para poder ser fuentes amplificadoras para la transmisión de este virus (14). Entre los más importantes de este grupo son los cuervos (9). Otros grupos de pájaros que se han encontrado capaces de amplificar el virus son los gansos, cigüeñas, águilas y halcones entre otros (9). Los seres humanos junto con otros mamíferos como equinos y ardillas, son hospederos terminales, lo que significa que no desarrollan suficiente viremia (15,16) como para poder ser fuentes de infección para el mosquito.

Cuando se presentan las condiciones favorables para el ciclo de transmisión mosquitos-aves, el número de mosquitos infectados con VON aumenta y se presenta un riesgo mayor para la infección del ser humano. Estas condiciones, no bien entendidas hasta el momento, generalmente se presentan entre la mitad y el final del verano en los países templados, ya que se ha observado un aumento en la incidencia de las infecciones en seres humanos con temperaturas climáticas elevadas (17). Estas temperaturas, producen una



disminución en el tiempo de incubación entre la infección y la infectividad del mosquito y aumenta la eficacia de la transmisión hacia las aves (18,19). Condiciones como traslape de zona rural con zona urbana (20), campos extendidos de irrigación (21), temperaturas elevadas (22), aumento en las lluvias (23) y varios factores socioeconómicos como la edad (24), el ingreso per cápita (21), el oficio (21) y el deficiente mantenimiento de piscinas privadas o públicas (25) se han relacionado en varios estudios con aumentos en la incidencia de VON. Sin embargo, para poder predecir la aparición de casos se necesita estudiar más profundamente estos y otros factores más.

La transmisión al ser humanos se da mayormente por la picadura del mosquito. Sin embargo, hay reportes de transmisión por medio de transfusiones sanguíneas o de algún hemoderivado (15) y por trasplantes de órganos (26). También se ha reportado transmisión de madre a hijo-hija trasplacentaria resultando poco frecuentemente en malformaciones congénitas pero sí consecuencias en desarrollo de enfermedad sintomática post-parto (27). Otra forma de infección poco frecuente es por medio de la leche materna y por inoculación accidental en el laboratorio (12).

### Aspectos virológicos

El VON pertenece a la extensa familia viral Flaviviridae y al género flavivirus. En esta familia podemos encontrar otros virus como el del dengue, el de la fiebre amarilla, el de la encefalitis japonesa y el de la encefalitis de San Luis. Serológicamente pertenece al complejo de las encefalitis japonesas. Hasta el momento, se designan 5 linajes filogenéticos diferentes (10). Solamente los linajes 1 y 2 han sido involucrados en los brotes de enfermedad en seres humanos. Los aislamientos virales de Norte América identificados en 1999 en Nueva York se han relacionado filogenéticamente con un virus del linaje 1 aislado en Israel en 1998 (28). El virus del oeste del Nilo posee una nucleocápside icosaédrica envuelta en membrana lipídica de unos 50 nm de diámetro (29). Su ácido nucleico es un ARN de banda simple de polaridad positiva de aprox. 11 kDa que codifica para tres proteínas estructurales: cápside, pre membrana y envoltura (C, prM, E) y siete proteínas no estructurales:

NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5 (7). Todavía se desconoce cuáles son los receptores celulares que permiten la unión del VON (30), aunque hay datos acerca de la implicación de la clatrina en el mecanismo de endocitosis del virus (31) y de los microdominios ricos en colesterol o balsas lipídicas ('lipid rafts' en inglés) en el proceso de infección (32,33). La entrada de los viriones en la célula va seguida de un descenso de pH que propicia la fusión de la membrana vírica con la membrana de la vesícula endosómica, produciéndose la liberación de la nucleocápside vírica en el citoplasma de la célula (34,35). El genoma de ARN se libera y se traduce en una única poliproteína que posteriormente origina las proteínas víricas maduras (36). El ensamblaje y la encapsidación del virión ocurren en asociación con las membranas del retículo endoplásmico rugoso y los viriones inmaduros intracelulares se acumulan en vesículas para posteriormente ser modificados y liberados por exocitosis como viriones maduros (30,37).

### Manifestaciones clínicas y patogénesis

El período de incubación va de los 2 a los 14 días pero se puede prolongar hasta los 21 en pacientes inmunocomprometidos (15,38). No se conoce cuántas personas desarrollan infección por VON después de una picada por el mosquito infectado (1). Se dice que el 80 % de las personas infectadas son asintomáticas, que el 20 % presenta un síndrome febril asociado a VON y que menos de un 1 % desarrollan la enfermedad neuroinvasiva (5,16,39). La mayoría de los pacientes con enfermedad causada por VON no son identificados correctamente por su clínica. Normalmente, muy pocos pacientes asintomáticos o aquellos con fiebre causada por VON recurren al centro médico y se dice que sólo un 5 % de estos fueron diagnosticados correctamente (16). Por lo que la tasa de incidencia de infección por VON se infiere en la mayoría de los casos por aquellos diagnosticados para la enfermedad neuroinvasiva (40). Los factores de riesgo para contraer VON no están bien definidos aún, pero una edad avanzada, cáncer, diabetes, hipertensión, alcoholismo, enfermedad renal, deficiencia en el receptor CCR5 y ser del sexo masculino aumentan el riesgo de enfermedad neuroinvasiva (4,40-45).



Así como si el modo de transmisión es el trasplante de órganos (26).

La fiebre causada por el Virus del oeste del Nilo puede presentarse desde una fiebre leve durante unos pocos días hasta una enfermedad debilitante que dura semana o meses (1). Los síntomas se presentan con un inicio abrupto: dolor de cabeza, malestar general, fiebre, mialgia, escalofríos, vómito, exantema, fatiga y dolor ocular (16). El exantema tiende a aparecer en la fase de defervescencia y es maculo-papular, no prurítico y predominantemente en el torso y las extremidades sin afectar las palmas y plantas (46).

La enfermedad neuroinvasiva se puede clasificar en meningitis, encefalitis o parálisis flácida similar a polio (47). La meningitis se caracteriza por tener un inicio abrupto de fiebre y dolor de cabeza junto con fotofobia (1,48,49). El dolor de cabeza puede ser severo y estar asociado a trastornos gastrointestinales que pueden culminar en deshidratación (50). La encefalitis puede variar en severidad desde un cuadro moderado de confusión que es auto limitado hasta una encefalopatía severa, coma y muerte (49). Estos pacientes generalmente desarrollan temblores en sus extremidades superiores (48,51). Se pueden presentar edema cerebral y derrames poco frecuentemente (47,51). La parálisis asociada a VON resulta de la destrucción de las astas de los cuernos anteriores de la médula espinal (52,53). Se presenta una debilidad asimétrica en las primeras 48 horas post inicio de los síntomas. Algunos pacientes requieren intubación endotraqueal debido a parálisis muscular del diafragma (53). Existen además otras manifestaciones clínicas poco frecuentes como miocarditis, hepatitis fulminante, entre otras (1).

Los pacientes con fiebre o meningitis asociados a VON generalmente se recuperan completamente sin complicaciones, pero hay reportes que la fatiga se puede mantener prolongadamente (42,54,55). Otras complicaciones a largo plazo reportadas han sido depresión, ansiedad y apatía (48,56). También se ha reportado que en personas de edad avanzada o con patologías de fondo se puede adelantar el momento de la muerte (57). Por otro lado, las consecuencias de una encefalitis asociada a VON son de mayor importancia.

Pacientes dados de alta requieren asistencia en actividades diarias y reportan dificultades motoras, funcionales y cognitivas hasta un año después de la infección aguda (58). En pacientes con parálisis flácida, sólo un tercio se recupera al nivel inicial y los dos tercios restantes sufren parálisis motora sin recuperación considerable (59). La tasa de muerte en los pacientes que sufren la enfermedad neuroinvasiva es de un poco menos del 10 % (4).

¿Cómo llega el virus al sistema nervioso central? Algunos componentes de la saliva del mosquito regulan en el sitio de inoculación de los vertebrados el funcionamiento de las células blanco iniciales como los queratinocitos (60) y las células dendríticas residentes de piel (61). Estas células migran a los nódulos linfáticos de donde una viremia desemboca a una infección generalizada de órganos y una potencial invasión del sistema nervioso central (1). El VON es capaz de replicarse y causar patología en el cerebro (neurovirulencia), sin embargo un requisito para esto es que el virus sea capaz de acceder al sistema nervioso central (neuroinvasivo). Entre los diferentes mecanismos postulados (41) para la neuroinvasividad encontramos:

- i) Paso directo por la barrera hematoencefálica debido al aumento en la permeabilidad vascular aumentada debido al incremento en ciertas citoquinas inflamatorias (por ejemplo TNF- $\alpha$ )
- ii) Paso por el endotelio de la barrera hematoencefálica
- iii) Mecanismo de “caballo de Troya” por tráfico de macrófagos infectados por el virus a través de la barrera hematoencefálica
- iv) Transporte axonal retrógrado post infección de neuronas periféricas

### Diagnóstico

El diagnóstico de VON se realiza generalmente por medio de la detección de anticuerpos específicos contra el virus tipo IgM presentes en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (1) (Cuadro 1). Esto se hace por medio de un MAC-ELISA ('IgM antibody-capture enzyme-linked immunosorbent assay', por sus siglas en inglés). Debido a que la IgM no cruza la barrera hematoencefálica, su presencia en LCR indica infección del sistema



nervioso central. Por lo menos el 90 % de los pacientes con encefalitis o meningitis tiene IgM demostrable en LCR hasta los 8 días post inicio de los síntomas (1). En pacientes inmunosupresos, la producción de este anticuerpo puede estar ausente o retrasada por lo que se debe tomar en cuenta a la hora de los análisis. En suero o plasma, la IgM puede no ser detectable ya que hay estudios que indican que sólo un 58 % de los pacientes con fiebre asociada al VON eran positivos cuando presentaban síntomas (62). Sin embargo, se puede confirmar el diagnóstico realizando comparaciones entre el suero agudo y convaleciente para ver el aumento en el título de IgM.

Hacer detección de anticuerpos tipo IgG específicos contra VON no tiene una utilidad en el diagnóstico agudo clínico (1). Además, en el caso de medir IgM en suero, una vacunación reciente contra el virus de la fiebre amarilla o cualquier infección reciente con algún flavivirus relacionado como el virus de San Luis o Dengue podrían dar un resultado positivo en el MAC-ELISA. Un ensayo de neutralización podría ayudar a distinguir reacciones de serocruzamiento entre los flavivirus en cuestión, pero este ensayo sólo está disponible en pocos laboratorios e infección con otros flavivirus podrían confundir el resultado (63). Además para complicar un poco más el diagnóstico serológico de esta enfermedad, la IgM puede mantenerse persistentemente después de una infección inicial por VON (64).

La amplificación del ácido nucleico del virus es útil sólo en ciertos escenarios clínicos. Por ejemplo, un estudio demuestra que pacientes con fiebre por VON, sólo se pudo identificar como VON positivos al 45 % de los pacientes cuando se hizo detección de ARN viral, 58 % si se realizó serología, pero si se hizo un diagnóstico con las dos metodologías en combinación se logró identificar al 94 % de los pacientes como positivos por VON (62). Igualmente, la técnica de RT-PCR ha sido valiosa en el diagnóstico de los pacientes inmunosupresos y en tamizaje de donantes de sangre (1).

El virus podría ser aislado en cultivo celular o en ratones recién nacidos desde suero de pacientes con viremia o del LCR de pacientes con

enfermedad neuroinvasiva (63). Sin embargo, debido a que los niveles de viremia son bajos, el éxito en el aislamiento viral es muy limitado.

Los valores de leucocitos en sangre periférica se encuentran generalmente normales o levemente elevados. El LCR de pacientes con enfermedad neuroinvasiva asociada a VON presenta glucosa normal, proteína elevada y una pleocitosis moderada con predominio de linfocitos, aunque en una etapa temprana de la infección, predominan los neutrófilos (65). Sin embargo, hay que tener en mente, que cuando los síntomas de la enfermedad neuroinvasiva aparecen, es muy probable que el virus ya no se encuentre en sangre. Esto, aunado a niveles de viremia muy bajos, refuerza la noción que el análisis de la presencia de IgM y ARN viral se debe hacer práctica y exclusivamente en el LCR del paciente y no en suero o plasma. Además, es necesario, analizar para la presencia de otros anticuerpos dirigidos contra virus de la familia flaviviridae o sus respectivos ácidos nucleicos para descartar reacciones cruzadas y falsos positivos (63).

El diagnóstico de la enfermedad neuroinvasiva por VON puede ser apoyado por estudios histopatológicos pero no existen hasta ahora descripciones de lesiones patognomónicas. Además estudios de imagenología y de contraste pueden ofrecer información valiosa en lesiones sobre todo en casos de parálisis flácida. Se pueden realizar estudios post mortem de tejidos fijados en formalina por medios de reacciones de inmunohistoquímica para detectar presencia del virus en el sistema nervioso central (63). Entre algunos diagnósticos diferenciales encontramos otras enfermedades virales que producen encefalitis, infecciones por rickettsias y muchas infecciones no virales.

### **Prevención y tratamiento**

El tratamiento de la infección por VON se mantiene de soporte del paciente. Se han investigado diferentes métodos terapéuticos como gammaglobulinas, anticuerpos neutralizantes monoclonales específicos anti VON, corticoesteroides, interferón y oligómeros anti-sentido (66,67). Sin embargo, ningún estudio ha documentado eficacia suficiente. También, no se ha aprobado ninguna vacuna para su uso en seres humanos a pesar de existir en el mercado 4

vacunas diferentes para su uso en equinos y varios candidatos de vacunas para su uso en humanos en estudio clínico fase I y II (1,66). Probablemente por razones de costo, mercadeo y por poseer una población blanco que no limitaría la amplificación del virus en la naturaleza (68).

La prevención de la infección se basa en reducir el número de mosquitos infectados por VON. Esto se realiza por medio de programas comunitarios de control de vectores ya sea por eliminación de criaderos o fumigación para la eliminación de formas adultas (69). Además, el uso de repelente ha sido asociado a la disminución del riesgo de infección por VON (39).

### Consideraciones finales

El resurgimiento del VON en el 2012 en el hemisferio norte americano sugiere que este virus será el causante de brotes locales y regionales poco predecibles en los años venideros. Estos brotes están asociados a las presentaciones clínicas de fiebre y enfermedad neuroinvasiva, esta última con una morbilidad considerable a largo plazo. Por lo tanto, un manejo integrado de vigilancia de la enfermedad y de control de vectores es crítico, particularmente en las áreas metropolitanas donde históricamente se han presentado la mayor cantidad de casos. Por otro lado, el desarrollo de una vacuna sería recomendable para proteger a las poblaciones más propensas a desarrollar complicaciones tras sufrir una enfermedad neuroinvasiva por VON.

En nuestro país, debido al reporte de casos de enfermedad por VON en equinos y la detección del virus en ciertas aves (Carlos Jiménez, UNA-Veterinaria, comunicación personal), es curioso la baja incidencia o casi ausencia de casos de fiebre y enfermedad neuroinvasiva asociadas a VON. Sería recomendable, en casos de pacientes que presenten patologías que concuerden con una encefalitis y/o meningitis viral o un cuadro de parálisis flácida, que se analicen sus respectivos LCRs para determinar la presencia de IgM anti VON o ácido nucleico del virus. Así se podría determinar realmente una incidencia de infección por el virus del oeste del Nilo en Costa Rica para poder tomar decisiones concretas relacionadas a las medidas preventivas y evitar posibles futuros brotes en seres humanos de esta enfermedad.

### Referencias bibliográficas

1. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: review of the literature. *Jama*. 2013;310(3):308–15.
2. Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O’Leary D, Murray K, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med*. 2001;344(24):1807–14.
3. Lindsey NP, Lehman JA, Staples JE, Fischer M. West Nile virus and other arboviral diseases - United States, 2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2014;63(24):521–6.
4. Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA, Fischer M. Surveillance for human West Nile virus disease - United States, 1999-2008. *MMWR Surveill Summ*. 2010;59(2):1–17.
5. Petersen LR, Carson PJ, Biggerstaff BJ, Custer B, Borchardt SM, Busch MP. Estimated cumulative incidence of West Nile virus infection in US adults, 1999-2010. *Epidemiol Infect*. 2013;141(3):591–5.
6. Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. A Neurotropic Virus Isolated from the Blood of a Native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg*. 1940;1-20(4):471–92.
7. Kramer LD, Li J, Shi P-Y. West Nile virus. *Lancet Neurol*. 2007;6(2):171–81.
8. Kramer LD, Styer LM, Ebel GD. A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annu Rev Entomol*. 2008;53:61–81.
9. Gamino V, Höfle U. Pathology and tissue tropism of natural West Nile virus infection in birds: a review. *Vet Res*. 2013;44:39.



10. May FJ, Davis CT, Tesh RB, Barrett ADT. Phylogeography of West Nile virus: from the cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol*. 2011;85(6):2964–74.
11. Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(8):699–704.
12. Petersen LR, Hayes EB. West Nile virus in the Americas. *Med Clin North Am*. 2008 Nov;92(6):1307–22, ix.
13. Hayes EB, Gubler DJ. West Nile virus: epidemiology and clinical features of an emerging epidemic in the United States. *Annu Rev Med*. 2006;57:181–94.
14. Kilpatrick AM, Daszak P, Jones MJ, Marra PP, Kramer LD. Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proc Biol Sci*. 2006;273(1599):2327–33.
15. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, et al. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med*. 2003;349(13):1236–45.
16. Zou S, Foster GA, Dodd RY, Petersen LR, Stramer SL. West Nile fever characteristics among viremic persons identified through blood donor screening. *J Infect Dis*. 2010;202(9):1354–61.
17. Soverow JE, Wellenius GA, Fisman DN, Mittleman MA. Infectious disease in a warming world: how weather influenced West Nile virus in the United States (2001–2005). *Environ Health Perspect*. 2009;117(7):1049–52.
18. Reisen WK, Fang Y, Martinez VM. Effects of temperature on the transmission of west nile virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*. 2006;43(2):309–17.
19. Kilpatrick AM, Meola MA, Moudy RM, Kramer LD. Temperature, viral genetics, and the transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* mosquitoes. *PLoS Pathog*. 2008;4(6):e1000092.
20. Bowden SE, Magori K, Drake JM. Regional differences in the association between land cover and West Nile virus disease incidence in humans in the United States. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(2):234–8.
21. DeGroot JP, Sugumaran R. National and regional associations between human West Nile virus incidence and demographic, landscape, and land use conditions in the coterminous United States. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2012;12(8):657–65.
22. Hartley DM, Barker CM, Le Menach A, Niu T, Gaff HD, Reisen WK. Effects of temperature on emergence and seasonality of West Nile virus in California. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;86(5):884–94.
23. Landesman WJ, Allan BF, Langerhans RB, Knight TM, Chase JM. Inter-annual associations between precipitation and human incidence of West Nile virus in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2007;7(3):337–43.
24. Ruiz MO, Walker ED, Foster ES, Haramis LD, Kitron UD. Association of West Nile virus illness and urban landscapes in Chicago and Detroit. *Int J Health Geogr*. 2007;6:10.
25. Reisen WK, Takahashi RM, Carroll BD, Quiring R. Delinquent mortgages, neglected swimming pools, and West Nile virus, California. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(11):1747–9.
26. Nett RJ, Kuehnert MJ, Ison MG, Orłowski JP, Fischer M, Staples JE. Current practices and evaluation of screening solid organ donors for West Nile virus. *Transpl Infect Dis*. 2012;14(3):268–77.



27. O'Leary DR, Kuhn S, Kniss KL, Hinckley AF, Rasmussen SA, Pape WJ, et al. Birth outcomes following West Nile Virus infection of pregnant women in the United States: 2003-2004. *Pediatrics*. 2006;117(3):e537-45.
28. Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, et al. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science*. 1999;286(5448):2333-7.
29. Mukhopadhyay S, Kim B-S, Chipman PR, Rossmann MG, Kuhn RJ. Structure of West Nile virus. *Science*. 2003;302(5643):248.
30. Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. *Clin Lab Med*. 2010;30(1):47-65.
31. Chu JJH, Ng ML. Infectious entry of West Nile virus occurs through a clathrin-mediated endocytic pathway. *J Virol*. 2004;78(19):10543-55.
32. Stiasny K, Koessl C, Heinz FX. Involvement of lipids in different steps of the flavivirus fusion mechanism. *J Virol*. 2003;77(14):7856-62.
33. Stiasny K, Fritz R, Pangerl K, Heinz FX. Molecular mechanisms of flavivirus membrane fusion. *Amino Acids*. 2011;41(5):1159-63.
34. Modis Y, Ogata S, Clements D, Harrison SC. Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion. *Nature*. 2004;427(6972):313-9.
35. Mukhopadhyay S, Kuhn RJ, Rossmann MG. A structural perspective of the flavivirus life cycle. *Nat Rev Microbiol*. 2005;3(1):13-22.
36. Suthar MS, Diamond MS, Gale M. West Nile virus infection and immunity. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(2):115-28.
37. Mackenzie JM, Westaway EG. Assembly and maturation of the flavivirus Kunjin virus appear to occur in the rough endoplasmic reticulum and along the secretory pathway, respectively. *J Virol*. 2001;75(22):10787-99.
38. Rhee C, Eaton EF, Concepcion W, Blackburn BG. West Nile virus encephalitis acquired via liver transplantation and clinical response to intravenous immunoglobulin: case report and review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2011;13(3):312-7.
39. Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, Singer DA, Nash D, Cooper MJ, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet*. 2001;358(9278):261-4.
40. Weber IB, Lindsey NP, Bunko-Patterson AM, Briggs G, Wadleigh TJ, Sylvester TL, et al. Completeness of West Nile virus testing in patients with meningitis and encephalitis during an outbreak in Arizona, USA. *Epidemiol Infect*. 2012;140(9):1632-6.
41. Cho H, Diamond MS. Immune responses to West Nile virus infection in the central nervous system. *Viruses*. 2012;4(12):3812-30.
42. Carson PJ, Konewko P, Wold KS, Mariani P, Goli S, Bergloff P, et al. Long-term clinical and neuropsychological outcomes of West Nile virus infection. *Clin Infect Dis*. 2006;43(6):723-30.
43. Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA, Fischer M. Medical risk factors for severe West Nile Virus disease, United States, 2008-2010. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;87(1):179-84.
44. Murray K, Baraniuk S, Resnick M, Arafat R, Kilborn C, Cain K, et al. Risk factors for encephalitis and death from West Nile virus infection. *Epidemiol Infect*. 2006;134(6):1325-32.





45. Bode A V, Sejvar JJ, Pape WJ, Campbell GL, Marfin AA. West Nile virus disease: a descriptive study of 228 patients hospitalized in a 4-county region of Colorado in 2003. *Clin Infect Dis.* 2006;42(9):1234–40.
46. Ferguson DD, Gershman K, LeBailly A, Petersen LR. Characteristics of the rash associated with West Nile virus fever. *Clin Infect Dis.* 2005;41(8):1204–7.
47. Burton JM, Kern RZ, Halliday W, Mikulis D, Brunton J, Fearon M, et al. Neurological manifestations of West Nile virus infection. *Can J Neurol Sci.* 2004;31(2):185–93.
48. Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA.* 2003;290(4):511–5.
49. Sejvar JJ. Clinical manifestations and outcomes of West Nile virus infection. *Viruses.* 2014;6(2):606–23.
50. Sejvar JJ, Curns AT, Welburg L, Jones JF, Lundgren LM, Capuron L, et al. Neurocognitive and functional outcomes in persons recovering from West Nile virus illness. *J Neuropsychol.* 2008;2(Pt 2):477–99.
51. Sayao A-L, Suchowersky O, Al-Khathaami A, Klassen B, Katz NR, Sevick R, et al. Calgary experience with West Nile virus neurological syndrome during the late summer of 2003. *Can J Neurol Sci.* 2004;31(2):194–203.
52. Leis AA, Stokic DS. Neuromuscular manifestations of west nile virus infection. *Front Neurol.* 2012;3:37.
53. Sejvar JJ, Bode A V, Marfin AA, Campbell GL, Ewing D, Mazowiecki M, et al. West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(7):1021–7.
54. Watson JT, Pertel PE, Jones RC, Siston AM, Paul WS, Austin CC, et al. Clinical characteristics and functional outcomes of West Nile Fever. *Ann Intern Med.* 2004;141(5):360–5.
55. Loeb M, Hanna S, Nicolle L, Eyles J, Elliott S, Rathbone M, et al. Prognosis after West Nile virus infection. *Ann Intern Med.* 2008;149(4):232–41.
56. Berg PJ, Smallfield S, Svien L. An investigation of depression and fatigue post West Nile virus infection. *S D Med.* 2010;63(4):127–9, 131–3.
57. Sejvar JJ, Lindsey NP, Campbell GL. Primary causes of death in reported cases of fatal West Nile Fever, United States, 2002–2006. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(2):161–4.
58. Emig M, Apple DJ. Severe West Nile virus disease in healthy adults. *Clin Infect Dis.* 2004;38(2):289–92.
59. Sejvar JJ, Bode A V, Marfin AA, Campbell GL, Pape J, Biggerstaff BJ, et al. West Nile Virus-associated flaccid paralysis outcome. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(3):514–6.
60. Lim P-Y, Behr MJ, Chadwick CM, Shi P-Y, Bernard KA. Keratinocytes are cell targets of West Nile virus in vivo. *J Virol.* 2011;85(10):5197–201.
61. Schneider BS, Higgs S. The enhancement of arbovirus transmission and disease by mosquito saliva is associated with modulation of the host immune response. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102(5):400–8.
62. Tilley PAG, Fox JD, Jayaraman GC, Preiksaitis JK. Nucleic acid testing for west nile virus RNA in plasma enhances rapid diagnosis of acute infection in symptomatic patients. *J Infect Dis.* 2006;193(10):1361–4.

63. Hayes EB, Sejvar JJ, Zaki SR, Lanciotti RS, Bode A V, Campbell GL. Clinical Manifestations of West Nile Virus Disease. *Emerg Infect Dis J - CDC*. 2005;11(8):1174–9.
64. Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, Kamel HT, Norris PJ, Walsh I, et al. Virus and antibody dynamics in acute west nile virus infection. *J Infect Dis*. 2008;198(7):984–93.
65. Tyler KL, Pape J, Goody RJ, Corkill M, Kleinschmidt-DeMasters BK. CSF findings in 250 patients with serologically confirmed West Nile virus meningitis and encephalitis. *Neurology*. 2006;66(3):361–5.
66. Beasley DWC. Vaccines and immunotherapeutics for the prevention and treatment of infections with West Nile virus. *Immunotherapy*. 2011;3(2):269–85.
67. Diamond MS. Progress on the development of therapeutics against West Nile virus. *Antiviral Res*. 2009;83(3):214–27.
68. Zohrabian A, Hayes EB, Petersen LR. Cost-effectiveness of West Nile virus vaccination. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(3):375–80.
69. Andreadis TG. The contribution of *Culex pipiens* complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile virus in North America. *J Am Mosq Control Assoc*. 2012;28(4 Suppl):137–51.

Cuadro 1. Diagnóstico del Virus del Nilo Occidental.

Diagnóstico	Tipo de Análisis	Comentarios
Serología	IgM anti-VON en LCR	- CONFIRMATORIO - Primeros 8 días - Positivo indica infección ya que IgM no cruza BHE
	IgM anti-VON en suero	- Puede no ser detectable - Puede ser persistente - Puede ser confirmatorio al medir aumento de cuatro veces el título (seroconversión) en muestras pareadas con 2 semanas de diferencia - Serocruza con otros flavivirus, hacer ensayos de neutralización
	IgG anti-VON en suero	- No tiene validez clínica aguda - Serocruza con otros flavivirus, hacer ensayos de neutralización - Puede ser confirmatorio al medir aumento de cuatro veces el título (seroconversión) en muestras pareadas con 2 semanas de diferencia
RT-PCR	ARN viral en LCR	- CONFIRMATORIO - Primeros 8 días post inicio de síntomas
	ARN viral en suero	- Poco sensible, por viremias bajas
Aislamiento viral	Suero o LCR	- Poco sensible - Muy lento (3-5 días)