

**01/05/10 - Temas de Zoonosis IV. Virus del Oeste del Nilo: su Emergencia en las Américas.**

Delia A. Enría, María A. Morales.

*Del Libro Temas de Zoonosis IV, Editorial Asociación Argentina de Zoonosis, Cap. 17.*

*El virus del Nilo Occidental (en inglés West Nile virus ? WNV) es miembro del género Flavivirus de la familia Flaviviridae. Pertenece taxonómicamente al serocomplejo de la Encefalitis Japonesa (JE) que incluye al virus de la Encefalitis de San Luis (SLE), el del Valle Murray, Kunjin y Rocío, entre otros.*

Desde la emergencia de este virus en los Estados Unidos en 1999, su actividad se ha documentado subsecuentemente en casi toda América del Norte, así como en el Caribe y América del Sur. En el año 2006 se aisló por primera vez el virus en la Argentina.

**Aspectos históricos:**

El WNV fue originalmente aislado en 1937 en la provincia de West Nile, Uganda, a partir de la sangre de una mujer que presentaba un síndrome febril. Desde esa fecha hasta 1999, el WNV fue considerado como un patógeno humano y animal de bajo impacto en salud. El virus se consideraba enzoótico en África, Asia Central y Occidental, Medio Oriente y la cuenca del Mediterráneo, con ocasionales extensiones en Europa. Un subtipo del WNV durante el período de 1937 a 1999 fue que se registraron epidemias sólo ocasionalmente. La infección en humanos, caballos y pájaros fue generalmente asintomática o leve; la enfermedad neurológica y la muerte fueron raras. Una excepción a esta característica fue un brote circunscripto a la región de Camargue, Francia, en la década de 1960.

El prolongado intervalo entre las epidemias, la percepción general de que el WNV no era importante para la salud pública y la falta de notificación de las epidemias y epizootías en la región Mediterránea en la década de 1990 contribuyeron a enmarcar la emergencia en esa década de las epidemias de WNV asociadas a enfermedad neurológica grave, algunas veces fatal. A partir de 1999 el virus comienza a reconocerse en otras regiones de las Américas, con un amplio rango de especies afectadas que comprenden diferentes vertebrados, incluyendo aves, caballos, humanos y hasta reptiles.

En 2006, el WNV se aísla en la Argentina por primera vez. Desde entonces hasta los inicios de 2008, se han reconocido una decena de casos esporádicos de encefalitis humanas asociadas con el virus.

### **El virus:**

La partícula viral es esférica, mide aproximadamente 50 nm de diámetro y posee una envoltura lipídica que deriva de la célula huésped. La nucleocápside contiene el RNA de simple cadena y polaridad positiva, de aproximadamente 11.000 nucleótidos. Insertas dentro de la envoltura se encuentran las proteínas de la envoltura (E) y de la membrana (M), las que son responsables de importantes propiedades virales, incluyendo el rango de huéspedes, tropismo tisular, replicación, ensamblado viral y la estimulación de las células B y T para el desarrollo de la respuesta inmune. El genoma RNA, al igual que el genoma del resto de los virus del género *Flavivirus*, posee una pequeña región no codificante en el extremo 5', seguido de la secuencia que codifica 3 proteínas estructurales (C, E y prM, precursor de la proteína M, que luego es procesado por una proteasa celular cuando se produce la maduración del virión) y 7 proteínas no estructurales (NS) en el siguiente orden: NS1 ? NS2a ? NS2b ? NS3 ? NS4a ? NS5 ? 3', seguida de una región no codificante de alrededor de 600 nucleótidos. La replicación viral ocurre en el citoplasma, en una zona con alta asociación con el retículo endoplasmático rugoso (RER), seguido del ensamblado viral en el interior del RER y liberación de la célula vía el sistema de secreción celular.

El análisis filogenético de las secuencias de genoma del virus procedente de distintas localizaciones geográficas revelan la existencia de 2 linajes genéticos diferentes: linaje 1 (comprende cepas de Europa, África, Asia, Australia y América del Norte) y linaje 2 (sólo incluye cepas del Sahara africano y Madagascar). El linaje 1 ha sido dividido en 4 agrupamientos: Kunjin, India, A y B (el cual incluye un aislamiento de India). Las cepas integrantes del grupo B, donde se encuentran las cepas de EE.UU., son todas virulentas para el ratón, mientras que los demás agrupamientos comprenden cepas tanto virulentas como atenuadas para el ratón. Las diferencias en la patogenicidad se han relacionado a nucleótidos que codifican para regiones específicas de la prM, E o proteínas no estructurales del virión. La caracterización genómica de dos fragmentos (356 bp C/preM y 313 bp NS5) de las tres cepas virales aisladas en Argentina permitió ubicarlas en el agrupamiento americano, en el Linaje 1A, y sugieren, además, la ocurrencia de diferentes eventos de introducción del WNV en Argentina.

### **Enfermedades asociadas.**

#### *Humanos:*

El período de incubación es de entre 2 y 14 días. La mayoría de las infecciones son asintomáticas. Los síndromes no complicados se caracterizan por el comienzo brusco de fiebre, cefalea y mialgias, generalmente acompañados de síntomas gastrointestinales. La enfermedad aguda dura en general menos de una semana, pero es frecuente una convalecencia prolongada con fatiga. Se han descrito

cuadros con exantema y linfadenomegalias generalizadas; otros cuadros clínicos son los de las meningo-encefalitis.

Los casos de meningitis son clínicamente indistinguibles de los de las otras meningitis virales. La encefalitis por virus WNV suele estar precedida por un pródromo de fiebre, cefalea y síntomas inespecíficos de pocos días de duración. Sin embargo, puede también presentarse con comienzo abrupto de fiebre, con signos y síntomas encefalíticos tales como cambio de conducta y vómitos. En un porcentaje cercano al 15%, la disfunción cerebral progresa hasta el coma. Otras anomalías incluyen debilidad muscular, disminución en los reflejos osteotendinosos, parálisis flácida y fallo respiratorio. Son infrecuentes las convulsiones y los signos de foco.

Los hallazgos del LCR incluyen pleocitosis leve con predominio linfocitario, incremento en la concentración de proteínas y glucosa normal.

En sangre periférica, puede observarse leucocitosis, aunque en algunos casos se encuentra leucopenia con linfopenia relativa y también anemia leve.

#### *Otros animales:*

El WNV ha sido aislado de caballos infectados naturalmente. Las tasas de infección de caballos en áreas con transmisión comprobada se han estimado en 40% en Toscana (Italia) y aproximadamente 20% en Long Island (EE.UU.). La enfermedad neurológica en caballos se caracteriza por una ataxia posterior, déficits propioceptivos y alteraciones en el comportamiento. Los casos más severos desarrollan parálisis de las patas traseras, postración, convulsiones y muerte. La tasa de letalidad supera el 40%. En otros mamíferos, la ocurrencia de encefalitis por WNV es desconocida, con la excepción de un caso aislado que se reportó en Norteamérica en un gato doméstico.

Una característica de la emergencia del WNV en los Estados Unidos ha sido la morbi-mortalidad registrada en las aves. Antes de 1998, la única evidencia de virulencia en pájaros naturalmente infectados fue el aislamiento del WNV a partir de un pichón de paloma (*Columba hva*) en Egipto. En 1998 el virus fue aislado en Israel del cerebro de cuatro cigüeñas blancas (*Ciconia ciconia*), un buitre (*Torgos traceliotus*) y gansos domésticos. Un brote de WNV entre gansos domésticos en Israel en noviembre de 1999 resultó en 400 casos, con una letalidad del 40%. Durante el brote de WNV de 1999, el impacto en los pájaros norteamericanos fue notable. Los córvidos (cuervos y arrendajos) en particular, así como otros miembros de 13 familias de aves distribuidas en 12 órdenes, sufrieron mortalidad. Aproximadamente un 80% de muertes asociadas al WNV han sido en cuervos americanos (*Corvus brachyrhynchos*) y otros córvidos.

#### **Epidemiología:**

La circulación del WNV ha sido descrita en África, Europa, el sur de Asia, Oceanía (subtipo Kunjin), América del Norte, islas del Caribe y más recientemente en América del Sur. La primera epidemia registrada de la encefalitis vírica del WNV en las Américas ocurrió en el área metropolitana de Nueva York al final del verano de 1999 y desde entonces, el virus continuó su expansión afectando amplias regiones que se extienden desde la selva boreal de la región central de Canadá hasta el sur de las pampas argentinas. Inmediatamente luego de la emergencia en Nueva York en el verano de 1999, ocurrió una dispersión local por toda el área metropolitana y el sudeste del estado, Connecticut, Nueva Jersey, Baltimore y Maryland. Para los finales de 2000 el virus se había dispersado hacia una gran área de la costa atlántica, desde Nueva Inglaterra a Carolina del Norte. Una segunda onda ocurrió entre fines de 2000 y principios de 2001 a través de la costa central del Golfo de México, desde Florida al sudeste de Georgia, incluyendo también Ohio, Michigan y la ciudad de Chicago. Para fines de 2001 el WNV se había dispersado desde las regiones costeras atlánticas y del Golfo hacia el oeste, en el sur y centro de la región del Valle del Mississippi; hacia el Norte en el Valle de Ohio y la región de los grandes lagos de los Estados Unidos y Canadá, y hacia el sur, en América Central y el Caribe. En el otoño de 2002 la dispersión del WNV llegó a las regiones costeras del Pacífico de América del Norte, en el verano de 2002 estaba ya establecido en el Sur de México. Durante 2003, la circulación del WNV se detectó en un área muy extensa de América Central, incluyendo 22 estados en México, en Belice, Guatemala, Cuba, Puerto Rico e Islas Bahamas. En 2004, se reportó la actividad de virus en el norte de Colombia, el este de Venezuela y en Trinidad e Hispaniola. Argentina notificó evidencias serológicas de circulación de virus en 2005 y se aisló por primera vez en América del Sur en 2006 a partir de 3 caballos muertos con sintomatología neurológica en la zona central de Argentina. Durante 2006 y 2007 se han detectado en el país casos humanos de encefalitis por *Flavivirus* en los que se ha identificado serológicamente al WNV como agente etiológico.

**Ciclo de transmisión:**

El WNV es amplificado por ciclos continuos de transmisión entre los mosquitos vectores y aves que actúan como reservorios. Los mosquitos infectados mantienen las partículas virales en sus glándulas salivales e infectan a diferentes especies de aves susceptibles durante su alimentación sanguínea. Los pájaros que actúan como vectores competentes tienen viremia durante uno a cuatro días luego de la exposición, después de la cual desarrollan una inmunidad de por vida. En América se ha detectado WNV en pájaros muertos de al menos 138 especies. Particularmente, los cuervos y arrendajos infectados por WNV en el continente americano han experimentado altas tasas de letalidad, comprobándose la transmisión viral directa a otros animales carroñeros por ingestión de tejidos

infectados con alto título viral.

Se considera que los seres humanos, caballos y la mayoría de otros mamíferos no desarrollan niveles infecciosos de viremia y son, por lo tanto, huéspedes terminales. Aunque habitualmente no ocurre transmisión persona a persona, se han documentado casos a través de transfusión sanguínea y trasplante de órganos, así como transmisión intrauterina, por lactancia y por exposición ocupacional.

Luego que en 2002 se notificaron 23 casos de transmisión por productos sanguíneos en EE.UU., este país decidió iniciar el tamizaje de WNV en bancos de sangre.

### **Vigilancia:**

La detección del WNV en aves y poblaciones de mosquitos puede ser de utilidad para predecir y prevenir las infecciones humanas y de animales domésticos. La vigilancia debería enfocarse en los componentes aviares y mosquitos del ciclo de transmisión enzoótica. La vigilancia basada en mosquitos es la principal herramienta para cuantificar la transmisión viral en un área. La enfermedad/mortalidad de las aves, resultó el método más sensible de detección temprana en América del Norte. Los métodos con aves vivas son los que tradicionalmente se han usado tanto para detectar como para vigilar la transmisión de los arbovirus (por ejemplo: SLE, Encefalitis Equinas del Este y del Oeste): aves centinelas cautivas (generalmente pollos, aunque también se han usado otras especies), y aves libres.

Los mamíferos no humanos, particularmente los equinos, pueden servir como centinelas efectivos dado que la alta densidad de exposición a los mosquitos los hace más probables de infectarse que los humanos. En las regiones donde los equinos están presentes, también debe establecerse vigilancia de enfermedad.

### **La vigilancia de casos humanos debe realizarse para:**

- 1) Determinar el impacto por área de la enfermedad causada por WNV;
- 2) Establecer la necesidad de programas de intervención;
- 3) Asignar recursos;
- 4) Identificar factores de riesgo de infección y poblaciones a más alto riesgo;
- 5) Identificar las áreas geográficas que necesitan intervenciones focales; y

6) Identificar las áreas en que estaría indicado conducir estudios analíticos de importancia para la salud pública.

En Argentina es fundamental la realización de estudios ecológicos que permitan identificar los distintos componentes del ciclo de transmisión, desconocidos en la actualidad y por otro lado, intensificar la vigilancia de las encefalitis virales para establecer la magnitud real que pudiera estar teniendo esta patología en el país.

### **Diagnóstico de laboratorio:**

La presentación clínica de la mayoría de los pacientes con encefalitis virales es similar, independientemente de la etiología. Además, la infección por otros arbovirus que causan encefalitis, como por ejemplo SLE, pueden presentarse con la misma sintomatología. El diagnóstico definitivo de la enfermedad se realiza, por lo tanto, mediante diagnóstico específico de laboratorio. El WNV puede aislarse a partir de sangre, suero, tejidos y LCR. El aislamiento viral o la detección del virus por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) tienen mayor probabilidad de éxito en muestras de aves y mosquitos, fundamentalmente. El virus también puede encontrarse en los fluidos orales y heces de pájaros infectados. En los huéspedes terminales, entre ellos el hombre, la detección de anticuerpos específicos en el suero y el LCR constituyen la principal herramienta diagnóstica, dado que los niveles de viremia son muy bajos y de muy escasa duración. La presencia de anticuerpos IgM anti WNV en LCR es diagnóstico de enfermedad neuroinvasiva, no obstante deben evaluarse los cruces serológicos para confirmar la identidad del *Flavivirus* infectante. Además, la probabilidad de persistencia de los anticuerpos IgM séricos y en LCR requiere que la confirmación por infección por WNV se realice la demostración de seroconversión por técnica de neutralización en muestras pareadas frente a un panel de *Flavivirus* con actividad reconocida en el área. Es importante considerar que las técnicas serológicas poseen limitaciones en la identificación viral de las infecciones secundarias (naturales o por antecedente de vacunación para Fiebre Amarilla, por ejemplo) al generarse una exacerbación de la reactividad cruzada debido a los altos niveles de anticuerpos presentes.

**Para las infecciones humanas, las definiciones de caso utilizadas son las siguientes:**

- Un caso sospechoso es cualquier persona que presente cuadro clínico de fiebre y manifestaciones neurológicas graves (de meningitis aséptica a encefalitis) de etiología desconocida.
- Un caso probable se define como un caso sospechoso con uno o

más de los siguientes criterios:

- Demostración de anticuerpos IgM séricos contra el WNV por ELISA.
  - ? Demostración de un título elevado de anticuerpos IgG específicos contra el WNV en el suero de fase de convalecencia sometido a tamizaje por ELISA o inhibición de la hemoaglutinación y confirmado por prueba de neutralización.

- Un caso confirmado es un caso probable con uno o más de los siguientes criterios:

- Aislamiento del WNV, o detección del antígeno o del genoma viral en tejido, suero, líquido cefalorraquídeo u otros fluidos corporales.
  - ? Demostración de seroconversión de los anticuerpos contra el WNV en prueba de neutralización en suero o LCR pareadas (aguda y convaleciente).
  - ? Demostración de anticuerpos IgM contra WNV por MAC-ELISA en muestra de LCR en fase aguda.

### **Prevención y control:**

Actualmente, la manera más eficaz de prevenir la transmisión del WNV y otros arbovirus a los seres humanos y a otros animales, o de controlar una epidemia una vez que la transmisión ha empezado, es reducir la exposición de la población a los mosquitos mediante el control de los vectores y/o a través de barreras hombre/vector. Un componente esencial de los programas de prevención y control de las enfermedades de transmisión vectorial es la educación pública acerca de estas enfermedades, cómo se transmite y cómo prevenir o reducir el riesgo de la exposición.

Existen vacunas licenciadas para caballos y una variedad de líneas de investigación para la búsqueda de vacunas humanas.

### **Referencias bibliográficas:**

- ? Campbell GL, AA Marfin, RS Lanciotti *et al.* West Nile Virus. Reviews The Lancet Infectious Diseases 2002; 2: 519-529.
- ? Guías de vigilancia de encefalitis por Arbovirus-CDC.
- ? Guías de vigilancia del virus del oeste del Nilo-CDC.
- ? Debáis RL, KL Tyler. West Nile virus meningoencephalitis. Nature Clinical Practice. Neurology. May 2006, vol 2 N° 5.
- ? Díaz AL, N Komar, A Visintin *et al.* West Nile virus in birds, Argentina. Emerging Infectious Diseases, 2008. Apr; 14 (4): 689-91.

? Hayes EB, N Komar, RS Nasci *et al.* Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease. *Emerging Infectious Diseases* 2005; 11 (8): 1167-1173.

? Hayes EB, JJ Sejvar, SR Zaki *et al.* Virology, Pathology, and Clinical Manifestations of West Nile Virus Disease. *Emerging Infectious Diseases* 2005; 2005 (8): 1174-1179.

? Mackenzie JS, DJ Gubler, LR Petersen. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nature Medicine Supplement* 2004; 10 (12): S98-S109.

? Morales MA, M Barrandeguy, C Fabbri *et al.* Isolation of West Nile virus (WNV) from equines in Argentina, 2006. *Emerging Infectious Diseases*, Vol 12, N° 10, October 2006, pp 1559-1561.

? Van der Meulen KM, MB Pensaert, HJ Nauwynck. West Nile virus in the vertebrate world. *Arch Virol* 2005; 150: 637-657.

---