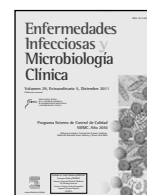




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Infección por virus West Nile

Mercedes Pérez Ruiz^{a,*}, Sara Sanbonmatsu Gámez^a y Miguel Ángel Jiménez Clavero^b

^aServicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

^bCentro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Valdeolmos, Madrid, España

RESUMEN

Palabras clave:
Virus West Nile
Enfermedad neuroinvasiva
Vigilancia
España

El virus West Nile (VWN) es un arbovirus cuyos vectores habituales son mosquitos y su principal reservorio aves, aunque es capaz de infectar a numerosas especies de vertebrados, entre ellos a los caballos y al hombre. Hasta el 80% de las infecciones en humanos son asintomáticas. La presentación clínica más frecuente es el síndrome febril, aunque en algunos casos (menos del 1%) puede ocasionar enfermedad neuroinvasiva. España es una zona de alto riesgo de emergencia de VWN debido a su climatología y a que es ruta de paso de aves migratorias procedentes de África, donde es endémico, y las cuales anidan en torno a humedales en los que abundan poblaciones de posibles vectores del virus. El diagnóstico de la infección neurológica en humanos se puede realizar mediante detección de IgM en suero y/o líquido cefalorraquídeo, demostración de aumento de al menos 4 veces el título de anticuerpos IgG entre suero de fase aguda y suero de fase convalescente, o por técnicas moleculares (especialmente útiles en trasplantados). Al ser un virus de nivel 3 de bioseguridad, las técnicas que impliquen cultivo celular están restringidas a laboratorios dotados de esas medidas de seguridad, como los laboratorios de referencia. El Plan Nacional para la Vigilancia de la Encefalitis por VWN permite detectar circulación del virus en aves y vectores en zonas especialmente susceptibles, como los humedales del país, y disponer de la información para valorar el riesgo de enfermedad en caballos y humanos.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

West Nile virus infection

ABSTRACT

Keywords:
West Nile virus
Neuroinvasive disease
Surveillance
Spain

West Nile virus (WNV) is an arbovirus usually transmitted by mosquitoes. The main reservoirs are birds, although the virus may infect several vertebrate species, such as horses and humans. Up to 80% of human infections are asymptomatic. The most frequent clinical presentation is febrile illness, and neuroinvasive disease can occur in less than 1% of cases. Spain is considered a high-risk area for the emergence of WNV due to its climate and the passage of migratory birds from Africa (where the virus is endemic). These birds nest surrounding wetlands where populations of possible vectors for the virus are abundant. Diagnosis of human neurological infections can be made by detection of IgM in serum and/or cerebrospinal fluid samples, demonstration of a four-fold increase in IgG antibodies between acute-phase and convalescent-phase serum samples, or by detection of viral genome by reverse transcription-polymerase chain reaction (especially useful in transplant recipients). Since WNV is a biosafety level 3 agent, techniques that involve cell culture are restricted to laboratories with this level of biosafety, such as reference laboratories. The National Program for the Surveillance of WNV Encephalitis allows the detection of virus circulation among birds and vectors in areas especially favorable for the virus, such as wetlands, and provides information for evaluation of the risk of disease in horses and humans.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mercedes.perez.ruiz.sspa@juntadeandalucia.es
(M. Pérez Ruiz).

Taxonomía y descripción del virus

El virus West Nile (VWN) es un arbovirus perteneciente a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus* y se incluye en el serocomplejo del virus de la encefalitis japonesa¹.

Es un virus con envoltura de unos 50 nm de diámetro, cuyo genoma consiste en una cadena sencilla de ARN de polaridad positiva (11 kb), codifica una poliproteína de unos 3.000 aminoácidos que, mediante la acción de proteasas virales y celulares, da lugar a 3 proteínas estructurales (cápsida [C], premembrana [prM] y envoltura [E]) y 7 proteínas no estructurales (NS) implicadas en la replicación del genoma².

Se han descrito 5 linajes genéticos del VWN³. Los virus de los linajes 1 y 2 afectan a humanos, caballos y aves. El linaje 1 presenta distribución mundial. Los virus del linaje 2 se localizaban en África Subsahariana y Madagascar, hasta que, a partir de 2004 aparecen en Europa (Hungría, Rusia, Rumania, Grecia) ocasionando grandes brotes con numerosos casos de enfermedad neuroinvasiva⁴⁻⁶. Se ha descrito un linaje 3 en Centroeuropa (República Checa) en mosquitos, sin que se haya detectado patogenicidad en mamíferos⁷, y un linaje 4 en garrapatas de la región del Cáucaso⁸. En la India se han encontrado cepas pertenecientes al linaje 5 en fuentes diversas (mosquito, murciélago, humano)⁹. Recientemente, se ha propuesto un nuevo linaje para una cepa detectada en mosquitos en España¹⁰.

Ciclo vital y transmisión

El VWN es un arbovirus, es decir, se transmite principalmente por picadura de artrópodo (mosquito). Lo habitual es que el virus se mantenga en un ciclo selvático o rural, en el que circula entre aves residentes y mosquitos ornitofílicos. El VWN es capaz de infectar a un amplio rango de especies, tanto de vectores como de hospedadores vertebrados. Entre los vectores prefiere los mosquitos del género *Culex*, mientras que entre las aves que actúan como hospedadores se sabe que algunas paseriformes sufren viremias muy elevadas, lo que las hace especialmente eficaces en la transmisión del virus. Ocasionalmente, y favorecido por condiciones ambientales particulares, a menudo relacionadas con el clima, el ciclo rural puede “desbordarse” y desembocar en un ciclo urbano en el que participan especies de aves sinantrópicas y mosquitos que actúan como vectores “puente” entre las aves y los mamíferos. En estas circunstancias se producen las graves epidemias con elevada incidencia en humanos¹¹.

La infección puede persistir en distintos órganos de aves¹² y mamíferos como los roedores¹³, por lo que el contagio también se puede producir cuando aves rapaces o carroñeras se alimentan de estos animales. El papel epidemiológico de la transmisión oral entre aves, sin embargo, no está claro. Se cree que puede representar un mecanismo de supervivencia del virus durante el invierno en áreas de clima templado. También se ha demostrado transmisión fecal-oral entre aves¹² y transmisión transovárica en mosquitos¹⁴, y ambos mecanismos podrían estar involucrados también en la supervivencia del virus al invierno, aunque el papel real de ambos fenómenos en la epidemiología del VWN está todavía por determinar. En particular, la vía de transmisión transovárica es poco eficiente y no parece suficiente para mantener la infección en sucesivas generaciones de vectores. Las aves migratorias tienen un papel muy importante en la distribución y propagación del VWN, reintroduciendo ocasionalmente el virus en las zonas templadas cuando regresan de sus áreas de invernada en las que éste es endémico^{15,16}. Sin embargo, el virus puede persistir en zonas templadas durante largo tiempo. Cuando esto ocurre, las aves que actúan como hospedadores locales (no necesariamente migratorias), juegan un papel importante en la dispersión del virus a corta y media distancia.

El VWN puede infectar a otros vertebrados, como caballos y humanos, cuando mosquitos portadores lo inoculan en sus picaduras. Si bien estas especies de mamíferos son susceptibles a la enfermedad,

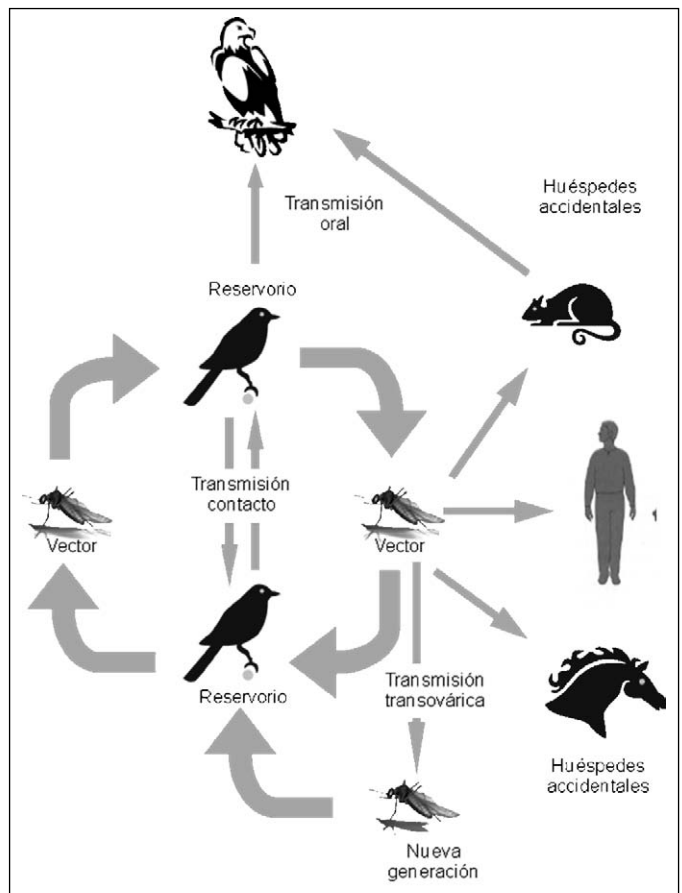


Figura 1. Ciclo biológico del virus West Nile.

constituyen una vía muerta para la transmisión, ya que la viremia que se alcanza en ellos no es suficiente para infectar de nuevo a otro mosquito; por ello se consideran hospedadores accidentales¹⁷ (fig. 1). Ocasionalmente, en humanos se ha descrito transmisión vertical intrauterina o durante la lactancia¹⁸, y también a través de transfusiones sanguíneas y trasplante de órganos^{19,20}.

Epidemiología

Aunque el VWN infecta principalmente a aves, es capaz de infectar a mamíferos y producir enfermedad tanto en caballos como en humanos. La mayoría de las infecciones por VWN en humanos son asintomáticas. Tan sólo un 20% desarrolla un cuadro clínico, generalmente leve y autolimitado. La forma neuroinvasiva de la enfermedad se presenta en menos del 1% de los infectados²¹.

La época de máxima incidencia de infección por VWN coincide con el pico de actividad de las poblaciones de mosquitos, que en las regiones templadas tiene lugar del verano al otoño. A final del otoño hay mayor riesgo de transmisión a mamíferos, al producirse durante el verano varios ciclos de replicación en aves y mosquitos, por lo que un elevado número de mosquitos estarían infectados²². Los humedales con abundancia en aves y mosquitos constituyen el entorno ideal para la circulación del VWN²³. Ésta puede ocurrir inadvertidamente en entornos rurales como los humedales, y es solamente cuando este ciclo rural se desborda a un ciclo urbano cuando observamos casos clínicos en caballos y humanos.

La mortalidad por VWN observada en las aves americanas es muy superior a la observada en aves del Viejo Mundo. Son varios los factores que podrían estar implicados en esta diferencia entre aves de ambos lados del Océano. En primer lugar parece haber diferencias en la resistencia de las aves a la infección. Las aves americanas no sólo

carecían de inmunidad frente al VWN, sino que no habían tenido la oportunidad de adaptarse al virus como seguramente lo hicieron por selección natural las aves del Viejo Mundo tras siglos de interacción con este virus. Por otro lado, la virulencia intrínseca del VWN que se introdujo en Nueva York en 1999 es probablemente más alta que la de muchas cepas circulantes en el Viejo Mundo. Por último, la transmisibilidad del virus parece ser mayor en Norteamérica. Mientras que en el Viejo Mundo los brotes son generalmente restringidos y autolimitados, en Norteamérica no ocurre así sino que, de hecho, la expansión del VWN desde 1999 ha sido explosiva, afectando a miles de humanos, aves y caballos, con elevada morbilidad²⁴. Factores aún no bien conocidos, asociados al rango de vectores y/o aves hospedadoras presentes en Estados Unidos, probablemente influyan en esta diferente transmisibilidad.

En los últimos años se han producido varios brotes de VWN en el Viejo Mundo, y aunque su magnitud y gravedad han sido menores que en América, la infección parece estar resurgiendo con una mayor patogenicidad (con elevada tasa de enfermedad neuroinvasiva) y en áreas en las que previamente no se habían declarado casos, como los brotes declarados en Rumania (1996)²⁵, Rusia²⁶ e Israel²⁷.

En la última década ha aumentado la detección de VWN en diferentes países del Mediterráneo (Francia, Italia, Marruecos, Israel, Túnez)²⁸. Durante el verano de 2010, Rumania⁴ y Grecia²⁹ registraron 2 brotes de infección humana por VWN del linaje 2, con tasas de letalidad del 8,8 y el 16,7%, respectivamente⁶. Los brotes ocurrieron en años con veranos muy calurosos precedidos por fuertes lluvias, en áreas cercanas a ríos que constituían importantes rutas migratorias de aves.

Las primeras actuaciones en España respecto a la vigilancia de VWN comienzan en 2003 en el contexto de la Red EVITAR (Enfermedades Víricas Importadas Transmitidas por Artrópodos o Roedores). Los estudios llevados a cabo han demostrado circulación del virus en aves y caballos³⁰⁻³². La primera vez que se detecta infección humana en España es en 2004, en un caso de meningitis³³. En septiembre de 2010, se diagnosticaron otros 2 casos de meningoencefalitis en varones de Cádiz, coincidiendo con un brote de VWN que afectó a 44 caballos de las provincias de Cádiz, Sevilla y Málaga y produjo 9 muertes en estos animales³⁴. Aunque no se realizaron estudios de seroprevalencia en humanos, la detección de 2 casos de infección neurológica humana en el contexto de un brote en caballos en una zona de especial vigilancia del virus, hace suponer que un número muy superior de personas tuvo infección asintomática o leve por VWN en esta área.

Actualmente existe un Plan Nacional para la Vigilancia de la Encefalitis por VWN³⁵ que se activa desde marzo-abril hasta finales de noviembre. Los objetivos del plan de vigilancia son: detectar circulación del virus en una zona y disponer de la información para valorar el riesgo de enfermedad desde el punto de vista de la sanidad animal y de la salud pública, para así adoptar las medidas específicas de control. En el ámbito veterinario, la vigilancia se centra en mosquitos, aves y caballos. Las principales zonas a vigilar son los humedales de España (Parque Nacional de Doñana y humedales de Cataluña, Valencia, Murcia y Baleares).

Características clínicas de la infección en humanos

Aproximadamente, el 80% de las personas con infección por VWN permanece asintomático y un 20% desarrolla infección clínica²¹, denominada fiebre por VWN; de éstos, menos del 1% desarrolla enfermedad neuroinvasiva³⁶.

El período de incubación de la infección es de 2-14 días. Se presenta normalmente como un síndrome pseudogripal con síntomas inespecíficos como fiebre, mialgia, fatiga, malestar general, cefalea, exantema maculopapular, vómitos, diarreas y ocasionalmente linfadenopatía^{36,37}.

La enfermedad neuroinvasiva ocurre tras un período de viremia, por la penetración del virus a través de la barrera hematoencefálica

e invasión directa de las neuronas, principalmente del bulbo raquídeo, ganglios basales y asta anterior de la médula espinal³⁸.

Enfermedad neuroinvasiva por virus West Nile

Los estudios serológicos indican que por cada caso de enfermedad neuroinvasiva tienen lugar 150 infecciones por VWN. La enfermedad neuroinvasiva por VWN se clasifica en 3 síndromes: encefalitis, meningitis y un síndrome similar a la poliomiélitis (seudopoliomiélitis). Realmente se desconoce si estos 3 síndromes son la consecuencia de diferentes fases de un espectro clínico continuo o si, por el contrario, son diferentes entidades clínicas³⁸.

Las encefalitis representan el 55-60% de los cuadros de enfermedad neuroinvasiva por VWN, las meningitis el 35-40% y las seudopoliomiélitis el 5-10%, aunque estas tasas varían en el contexto de una epidemia local o estacional dada^{36,39,40}. Otras presentaciones asociadas a la enfermedad neuroinvasiva por VWN son: cerebelitis, neuropatía craneal, polineuropatía, radiculopatía, coriorretinitis, rabdomiólisis y neuritis óptica. Aunque muy infrecuentemente, se han descrito casos de pancreatitis, hepatitis, uveítis, miocarditis, orquitis y vitritis². En un mismo paciente se pueden dar varios de estos síndromes a la vez^{2,38}.

Meningitis. Se presenta habitualmente con fiebre, cefalea, fotofobia, fonofobia y rigidez de nuca. El análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) demuestra pleocitosis, generalmente inferior a 500 leucocitos/ μ l, con predominio linfocitario y valores de glucorraquia normales⁴¹⁻⁴³. Por tanto, son signos inespecíficos compatibles con una meningitis aséptica.

Encefalitis. La encefalitis por VWN tiene lugar cuando la infección invade el parénquima cerebral. Los síntomas más frecuentes son comunes a cualquier encefalitis viral, e incluyen fiebre, cefalea, alteración del nivel de conciencia y signos y síntomas neurológicos focales: disartria, temblores, ataxia, movimientos involuntarios y parkinsonismo². También se han descritos otros síntomas como vómitos (30-75%), seguidos de diarrea (15-35%) y exantema (5-15%).

La presencia de debilidad grave e hiporreflexia en un paciente con meningoencefalitis podría hacer sospechar una infección por VWN. A diferencia de otras encefalitis, éstos son síntomas frecuentes en los casos de encefalitis por VWN, en ausencia de trastornos sensoriales. Otros hallazgos diferenciales son neuropatía craneal (20%), discinesias y anomalías oculares^{36,39,40}.

Los hallazgos patológicos son inespecíficos e incluyen nódulos microgliales, inflamación crónica perivascular, y pérdida neuronal variable y necrosis⁴⁴.

La mayoría de los pacientes con meningitis o encefalitis por VWN se recupera en un período variable que va de días a meses, aunque el pronóstico de los pacientes con encefalitis es peor⁴³. En pacientes inmunodeprimidos la encefalitis es la enfermedad más común. Los individuos trasplantados de órgano sólido tienen un riesgo 40 veces superior que los pacientes inmunocompetentes de sufrir una infección neuroinvasiva por VWN. También se han descrito casos de encefalitis por VWN en pacientes con trasplante de precursores hematopoyéticos⁴⁵.

Sseudopoliomiélitis. Cerca del 10% de los pacientes hospitalizados en Nueva York en el brote de 1999 desarrolló un síndrome similar a la poliomiélitis⁴⁶. Éste puede darse aisladamente o en combinación con meningitis o encefalitis en un mismo paciente⁴⁷.

A diferencia de la encefalitis, más frecuente en ancianos, la seudopoliomiélitis por VWN no tiene preferencia de edad. El cuadro es de evolución rápida (24-48 h). La característica clínica más frecuente es la parálisis flácida asimétrica, acompañada de hiporreflexia o arreflexia de los miembros afectados. Puede afectar a los 4 miembros o a uno solo. En algunos casos aparece insuficiencia respiratoria que re-

Tabla 1Criterios diagnósticos de la enfermedad neuroinvasiva y no neuroinvasiva por arbovirus⁴⁷

Criterios clínicos
<i>Enfermedad neuroinvasiva</i>
Fiebre y al menos uno de los siguientes:
Alteración del estado mental (desorientación, somnolencia, estupor o coma)
Otros signos agudos de disfunción neurológica central o periférica (paresia, parálisis nerviosa, déficit sensorial, reflejos o movimientos anormales, convulsiones)
Pleocitosis en el LCR asociada con enfermedad compatible con meningitis (p. ej., cefalea, rigidez de nuca)
<i>Enfermedad no neuroinvasiva</i>
Fiebre
Ausencia de enfermedad neuroinvasiva
Ausencia de otro diagnóstico clínico
<i>El compromiso de otros órganos (hígado, páncreas, corazón) se debe documentar basándose en criterios clínicos y de laboratorio</i>
Criterios de laboratorio
Al menos uno de los siguientes hallazgos:
Aumento de 4 veces el título de anticuerpos frente a VWN
Aislamiento del virus o demostración de antígeno viral o ARN en tejido, sangre, LCR u otro líquido orgánico
Valores de anticuerpos IgG elevados en suero de fase aguda o convalescente mediante técnicas de ELISA, neutralización o inhibición de la hemaglutinación
Detección de IgM específica en suero mediante ELISA de captura
Definición de caso
Presencia de al menos un criterio clínico y uno o más criterios de laboratorio
<i>Caso confirmado</i>
Uno de los siguientes:
Aumento (≥ 4 veces) del título de anticuerpos específicos
Aislamiento del virus o demostración de antígeno viral o ARN en tejido, sangre, LCR u otro líquido orgánico
Demostración de IgM específica en LCR mediante ELISA de captura
Demostración de IgM específica en suero mediante ELISA de captura y confirmada por demostración de IgG específica en la misma muestra u otra muestra posterior mediante otra técnica serológica (neutralización o inhibición de la hemaglutinación)
<i>Caso probable</i>
Aumento (≤ 2 veces) del título de anticuerpos específicos, o
Demostración de IgM específica (ELISA de captura) sin resultados de confirmación (demostración IgG en la misma muestra u otra posterior por otra técnica serológica)

LCR: líquido cefalorraquídeo; VWN: virus West Nile.

quiere intubación endotraqueal. En un 30% de los pacientes también tiene lugar disfunción del intestino y vejiga urinaria².

Anteriormente a la debilidad muscular (1-2 semanas antes), los pacientes debutan con un síndrome seudogripal seguido de rigidez de nuca y alteración del estado mental. En los casos descritos en la bibliografía, los pacientes con seudopoliomielitis por VWN no eran inmunodeprimidos. En la fase avanzada de la enfermedad aparece atrofia muscular, y algunos estudios publicados refieren secuelas neurológicas.

Los estudios patológicos demuestran signos y síntomas derivados de la inflamación aguda del asta anterior de la médula espinal por mecanismos debidos a efectos directos del virus, o derivados de la respuesta inmune³⁸.

Diagnóstico de laboratorio de infección humana

En la tabla 1 se muestran los criterios clínicos y de laboratorio definidos por los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) para el diagnóstico de enfermedad neuroinvasiva y no neuroinvasiva por arbovirus⁴⁸.

Para el diagnóstico de laboratorio se pueden emplear métodos indirectos como la detección de anticuerpos frente a VWN en LCR y suero, y métodos directos como las técnicas de amplificación del ARN viral y cultivo celular.

Bioseguridad

El VWN está clasificado como un agente infeccioso de nivel 3 de bioseguridad. Se ha demostrado infección adquirida en personas por motivos laborales, como trabajadores en laboratorios y criadores de pavos⁴⁹.

El VWN puede estar presente en sangre, suero, tejidos y LCR de personas infectadas. La inoculación parenteral es la vía principal de contagio.

La manipulación de muestras clínicas para diagnóstico que no implique cultivo virológico ni riesgo de amplificación de virus vivo se puede realizar en un laboratorio 2 de bioseguridad, con equipamientos y material de protección adecuados. La manipulación de cultivos celulares, órganos y tejidos infectados está restringida a laboratorios que dispongan de nivel 3 de bioseguridad⁵⁰.

Métodos indirectos

El diagnóstico de la infección por VWN se basa esencialmente en la demostración de anticuerpos IgG y/o IgM en el paciente infectado. La demostración de IgM específica frente a VWN en suero se considera diagnóstica de una infección reciente. La toma de la muestra de suero debe realizarse entre los días 8 y 21 del inicio de los síntomas. Por ello pueden darse casos de falsos negativos cuando la sangre se

extrae antes del 8.º día o después del día 21. Se han descrito casos en los que la IgM anti-VWN puede persistir positiva hasta 1 año; en estos casos, una determinación positiva aislada puede no ser indicativa de infección. Por tanto, para el diagnóstico definitivo de la infección se recomienda la toma de sueros pareados de fase aguda y fase convaleciente para demostrar seroconversión o aumento de 4 veces el título de anticuerpos IgG específicos⁵¹.

En muy raras ocasiones se diagnostica infección leve por VWN, ya que no está incluida en el perfil serológico compatible con síndrome febril en nuestro medio. En este contexto, la detección de IgM anti-VWN en el suero de un paciente puede ser diagnóstica de enfermedad neuroinvasiva. El diagnóstico definitivo de infección neurológica se puede realizar mediante demostración de IgM específica en LCR.

La técnica recomendada para detectar anticuerpos frente a VWN es el ELISA de captura. Existen algunos kits comerciales para realizar tests serológicos, mediante ELISA e inmunofluorescencia (IF), para detección de IgG e IgM específica frente a VWN⁵².

Hay que tener en cuenta que en determinadas áreas geográficas en las que cocirculan otros flavivirus se pueden dar reacciones cruzadas. Por ello, ante una prueba serológica positiva (ELISA, IF) es necesario confirmar el caso mediante otra técnica más específica, como la neutralización del efecto citopático. Para determinar reacción cruzada con otros flavivirus, se deben incluir en esta prueba como antígenos, además de VWN, otros flavivirus que haya o se sospeche estén circulando en la zona. Si el título de anticuerpos neutralizantes frente al VWN es ≥ 4 veces el título obtenido frente a los otros flavivirus, la serología se atribuye a una respuesta específica frente al VWN.

Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos

Existen reactivos comerciales para detección de genoma de VWN en muestras clínicas, principalmente basados en técnicas de RT-PCR en tiempo real⁵². La rentabilidad de estas pruebas frente a la serología depende de varios factores:

1. *El tipo de paciente.* Aunque la serología es la técnica de referencia para el diagnóstico de infección por VWN, la RT-PCR es especialmente útil en trasplantados de órgano sólido y de precursores hematopoyéticos, en los que la serología ha demostrado dar falsos negativos⁴⁵.
2. *Momento de toma de la muestra.* En los casos humanos de infección por VWN descritos en España, el diagnóstico de confirmación fue exclusivamente serológico. La incapacidad para detectar ARN del VWN pudo deberse, en parte, al retraso en la sospecha diagnóstica y, por tanto, en la toma de la muestra⁵³.
3. *Dianas del genoma.* Dado el alto grado de variabilidad genética en el VWN, la RT-PCR debe dirigirse a regiones conservadas para detectar cualquier variante y, fundamentalmente, los linajes 1 y 2, que son los que afectan al hombre⁵⁴.

Cultivo

El VWN se propaga en diversas líneas celulares de mamíferos, como Vero y BHK-1, así como en células de embrión de pollo y en diversas líneas celulares de mosquitos⁵⁵. Con fines de diagnóstico rutinario, el cultivo celular no ofrece ventajas con respecto a la serología o la RT-PCR, teniendo en cuenta además que debe realizarse en un laboratorio de bioseguridad tipo 3. Por ello, se restringe principalmente a laboratorios de referencia. En este contexto, el aislamiento del virus en cultivo celular proporciona cepas virales de cuyo estudio se obtienen valiosos datos epidemiológicos.

Conclusiones

El VWN es un patógeno emergente en diversas partes del mundo, entre ellas la región mediterránea, que abarca nuestro país. Actual-

mente hay en marcha un plan de vigilancia epidemiológica de esta enfermedad en España, que sirve para poder detectar de forma temprana la circulación del virus y así poder estar mejor preparados ante un posible brote. Dado que actualmente no se investiga rutinariamente VWN en casos de meningitis y/o encefalitis, y que la enfermedad neuroinvasiva suele ser indistinguible de la producida por otros virus, es fundamental que exista una rápida comunicación y coordinación entre sanidad animal y salud pública cuando se detecte un aumento de circulación del virus y/o mortalidad anormalmente elevada en aves y/o caballos en una determinada zona. De esta forma se podrá alertar a los clínicos para incluir la investigación de VWN en el estudio de meningitis y encefalitis con sospecha de etiología viral. Además, es importante realizar un buen diagnóstico de laboratorio teniendo en cuenta las limitaciones de cada una de las técnicas recomendadas para el diagnóstico de infección por VWN. Aunque hay pruebas serológicas comerciales, es conveniente confirmar la detección de anticuerpos anti-VWN mediante ELISA o IF con una técnica de confirmación, como la seroneutralización. Esta última, que implica el manejo de cultivos celulares, sólo puede realizarse en laboratorios con nivel 3 de bioseguridad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Bünchen-Osmond C. Taxonomy and classification of viruses. En: Murray PR, editor. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington, DC: ASM Press; 2007. p. 1273-83.
2. Kramer LD, Li J, Shi PY. West Nile virus. *Lancet Neurol*. 2007;6:171-81.
3. Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V, Kerst AJ, Murri S, Meyer R, et al. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the middle East. *Virology*. 2002;298:96-105.
4. Sirbu A, Ceianu CS, Panculescu-Gatej RI, Vázquez A, Tenorio A, Rebreanu R, et al. Outbreak of West Nile virus infection in humans, Romania, July to October 2010.
5. Platonov AE, Fedorova MV, Karan LS, Shopenskaya TA, Platonova OV, Zhuravlev VI. Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitol Res*. 2008;103 Suppl 1:S45-53.
6. Papa A, Bakonyi T, Xanthopoulou K, Vázquez A, Tenorio A, Nowotny N. Genetic characterization of West Nile virus lineage 2, Greece, 2010. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:920-2.
7. Bakonyi T, Hubálek Z, Rudolf I, Nowotny N. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:225-31.
8. Lvov DK, Butenko AM, Gromashevsky VL, Kovtunov AI, Prilipov AG, Kinney R, et al. West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations. *Arch Virol Suppl*. 2004;18:85-96.
9. Bondre VP, Jadhav RS, Mishra AC, Yergolkar PN, Arankalle VA. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J Gen Virol*. 2007;88:875-84.
10. Vázquez A, Sánchez-Seco MP, Ruiz S, Molero F, Hernández L, Moreno J, et al. Putative new lineage of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:549-52.
11. Hubálek Z, Halouzka J. West Nile fever: a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis*. 1999;5:643-50.
12. Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, et al. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:311-22.
13. Tesh RB, Siirin M, Guzmán H, Travassos da Rosa AP, Wu X, Duan T, et al. Persistent West Nile virus infection in the golden hamster: studies on its mechanism and possible implications for other flavivirus infections. *J Infect Dis*. 2005;192:287-95.
14. McAbee RD, Green EN, Holeman J, Christiansen J, Frye N, Dealey K, et al. Identification of *Culex pipiens* complex mosquitoes in a hybrid zone of West Nile virus transmission in Fresno County, California. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;78:303-10.
15. Nasci RS, Savage HM, White DJ, Miller JR, Cropp BC, Godsey MS, et al. West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg Infect Dis*. 2001;7:742-4.
16. Cupp EW, Hassan HK, Yue X, Oldland WK, Lilley BM, Unnasch TR. West Nile virus infection in mosquitoes in the mid-south USA, 2002-2005. *J Med Entomol*. 2007;44:117-25.
17. Rossi SL, Ross TM, Evans JD. West Nile virus. *Clin Lab Med*. 2010;30:47-65.
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Intrauterine West Nile virus infection-New York, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2002;51:1135-6.
19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). West Nile virus transmission via organ transplantation and blood transfusion - Louisiana, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2009;58:1263-7.

20. 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;13:312-7.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). West Nile virus activity -United States, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59:769-72.
22. Gould EA, Higgs S. Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;103:109-21.
23. Ghosh D, Guha R. Using a neural network for mining interpretable relationships of West Nile risk factors. *Soc Sci Med.* 2011;72:418-29.
24. Reiter P. West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro Surveill.* 2010;15:19508.
25. Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Neldecu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet.* 1998;352:767-71.
26. Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina OY, Tyutyunnik EN, Frolochkina TI, Lanciotti RS, et al. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:128-32.
27. Green MS, Weinberger M, Ben-Ezer J, Bin H, Mendelson E, Gandacu D, et al. Long-term Death Rates, West Nile virus epidemic, Israel, 2000. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1754-7.
28. Calistri P, Giovannini A, Hubalek Z, Ionescu A, Monaco F, Savini G, et al. Epidemiology of West Nile virus in Europe and in the Mediterranean basin. *Open Virol J.* 2010;4:29-37.
29. Papa A, Danis K, Baka A, Bakas A, Dougas G, Lytras T, et al. Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece, July-August 2010. *Euro Surveill.* 2010;15:19644.
30. Figuerola J, Soriguer R, Rojo G, Gómez Tejedor C, Jiménez-Clavero MA. Seroconversion in wild birds and local circulation of West Nile virus, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1915-7.
31. Figuerola J, Jiménez-Clavero MA, López G, Rubio C, Soriguer R, Gómez-Tejedor C, et al. Size matters: West Nile virus neutralizing antibodies in resident and migratory birds in Spain. *Vet Microbiol.* 2008;132:39-46.
32. Jiménez-Clavero MA, Llorente F, Sotelo E, Soriguer R, Gómez-Tejedor C, Figuerola J. West Nile virus serosurveillance in horses in Doñana, Spain, 2005 to 2008. *Vet Rec.* 2010;167:379-80.
33. Kaptoul D, Viladrich PF, Domingo C, Niubó J, Martínez-Yélamos S, De Ory F, et al. West Nile virus in Spain: report of the first diagnosed case (in Spain) in a human with aseptic meningitis. *Scand J Infect Dis.* 2007;39:70-1.
34. Consejería de Agricultura y Pesca. Dirección General de la Producción Agrícola y Ganadera. Junta de Andalucía. Focos declarados de encefalitis del Nilo Occidental (West Nile) en Andalucía, 2010 [consultado 6-6-2011]. Disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/portal/export/sites/default/comun/galerias/galeriaDescargas/cap/agricultura-ganaderia/Ganaderia/Microsoft_Word_-_Focos_a_Web_01.10.2010.docxmanuel.fernandez.mor-17x.pdf
35. Secretaría General de Medio Rural. Dirección General de Recursos Agrícolas y Ganaderos. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Plan de Vigilancia de la Encefalitis del Oeste del Nilo, 2010 (West Nile) en España. Disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/portal/export/sites/default/comun/galerias/galeriaDescargas/cap/agricultura-ganaderia/Ganaderia/PLAN_DE_VIGILANCIA_WN_2010.pdf
36. Sejvar JJ. The long-term outcomes of human West Nile virus infection. *Clin Infect Dis.* 2007;44:1617-24.
37. 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;141:360-5.
38. DeBiasi RL. West Nile Virus Neuroinvasive Disease. *Curr Infect Dis Rep.* 2011. DOI:10.1007/s11908-011-0193-9.
39. Tyler KL. West Nile virus infection in the United States. *Arch Neurol.* 2004;61:1190-5.
40. 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.
41. 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;344:1807-14.
42. 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;290:511-5.
43. Bode AV, 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;42:1234-40.
44. Gyure KA. West Nile virus infections. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2009;68:1053-60.
45. Fischer SA. Emerging viruses in transplantation: there is more to infection after transplant than CMV and EBV. *Transplantation.* 2008;86:1327-39.
46. Li J, Loeb JA, SHY ME, Shah AK, Tselis AC, Kupski WJ, et al. Asymmetric flaccid paralysis: a neuromuscular presentation of West Nile virus infection. *Ann Neurol.* 2003;53:703-10.
47. Sejvar JJ, Bode AV, Marfin AA, Campbell GL, Ewing D, Mazowiecki M, et al. West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1021-7.
48. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Neuroinvasive and Non-Neuroinvasive Domestic Arboviral Diseases. 2004 case definition. Disponible en: http://www.cdc.gov/osels/ph_surveillance/nndss/casedef/arboviral_2004.htm
49. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired West Nile virus infections-United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2002;51:1133-5.
50. US Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Revised December 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. [consultado 27-5-2011]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMBL.pdf>
51. Tardei G, Ruta S, Chitu V, Rossi C, Tsai TF, Cernescu C. Evaluation of immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme immunoassays in serologic diagnosis of West Nile Virus infection. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2232-9.
52. European Network for Diagnostics of "Imported" Viral Diseases (ENIVD). Viruses, diagnostics, and quality assurance. Commercial diagnostic tests. Last update: 28 July, 2010 [consultado 6-6-2011]. Disponible en: <http://www.enivd.de/index.htm>
53. Pedrosa-Corral I, Sanbonmatsu S, Pérez-Olmo C, Sampedro A, Pérez-Ruiz M, Sánchez-Seco MP, et al. Vigilancia de infección humana por virus del Nilo Occidental (VNO) en el contexto de un brote de infección en caballos en Andalucía. XI Congreso SEIMC. Málaga; 2011. Abstract 194 [consultado 10-6-2011] Disponible en: <https://intranet.pacifico-meetings.com/amsysweb/PublicacionOnline.iface?id=41>
54. Jiménez-Clavero MA, Agüero M, Rojo G, Gómez-Tejedor C. A new fluorogenic real-time RT-PCR assay for detection of lineage 1 and lineage 2 West Nile viruses. *J Vet Diagn Invest.* 2006;18:459-62.
55. Hayes CG. West Nile virus. En: Monath TP, editor. *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology.* Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, Inc.; 1989. p. 59-88.