

# West Nile virus: el virus de la fiebre del Oeste del Nilo

X. Vallès<sup>1</sup>  
F. Sánchez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Epidemiología. Institut Municipal de la Salut  
<sup>2</sup>Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas. Hospital del Mar. Barcelona.

Correspondencia:  
Dr. Xavier Vallès.  
Servei d'Epidemiologia  
Institut Municipal de la  
Salut de Barcelona.  
Plaça Lesseps, 1.  
08023 Barcelona.  
E-mail:  
xvalles@imbsb.bcn.es

## Resumen

Identificado por primera vez en Uganda en 1937, la ecología del virus West Nile (VWN) se caracterizó en Egipto en los años 50. Fue reconocido como causa de encefalitis humana durante un brote ocurrido en Israel en 1957. A principios de los 60 fue descubierto en caballos enfermos en Egipto y Francia. La aparición del virus en Norteamérica en 1999 en forma de una encefalitis epidémica puede ser una clave importante de la historia evolutiva del virus.

El VWN se ha descrito en África, Europa, Oriente Medio, Asia occidental y central, Oceanía y, más recientemente, Norteamérica. En España y Portugal no se ha documentado ningún brote, pero los estudios de serovigilancia han mostrado una elevada seroprevalencia del VWN entre la población que habita cerca de los deltas de los grandes ríos.

La manifestación más grave de la infección es la encefalitis de evolución fatal en el hombre y el caballo, así como la mortandad de ciertas especies de aves salvajes y domésticas. Otros brotes de encefalitis por VWN han ocurrido en Argelia (1994), Rumanía (1996-1997), República Checa (1997), República Democrática del Congo (1998) Rusia (1999) e Israel (2000).

Factores medioambientales, incluyendo actividades humanas que aumentan las poblaciones de mosquitos vectores, pueden haber incrementado la actividad del VWN en África. Este aumento de actividad del virus en África podría traducirse en una epidemia de fiebre del Oeste del Nilo en Europa y Norteamérica en los próximos años.

**Palabras clave:** Virus West Nile. Encefalitis. Factores medioambientales.

## Summary

West Nile virus (WNV) was first isolated in Uganda in 1937. The ecology was characterized in Egypt in the 1950s. The virus became recognized as a cause of severe human encephalitis during an outbreak in Israel in 1957. Equine disease was first noted in Egypt and France in the early 1960s. The appearance of WNV in North America in 1999 with encephalitis reported in humans and horses, may be an important milestone in the evolving history of this virus.

WNV has been described in Africa, Europe, the Middle East, west and central Asia, Oceania, and most recently, North America. In Spain and Portugal no outbreaks are documented, but serosurveillance studies has showed a notorious seroprevalence among the inhabitants of delta areas of the greatest peninsular rivers.

The most serious manifestation of infection is fatal encephalitis in humans and horses, as well as mortality in certain domestic and wild birds. Recent outbreaks of WNV encephalitis in humans have occurred in Algeria (1994), Romania (1996-1997), Czech Republic (1997), Democratic Republic of the Congo (1998), Russia (1999) and Israel (2000).

Environmental factors, including human activities, that enhance population densities of vector mosquitoes, could increase the activity of WNV in Africa and that increase should be followed by an epidemic occurrence of West Nile fever in Europe and North America in the next few years.

**Key words:** West Nile Virus. Encephalitis. Environmental factors.

## Introducción

A finales del mes de agosto de 1999 se registraron siete casos mortales de encefalitis vírica en la ciudad de Nueva York<sup>1</sup>. De forma paralela, se detectaba una mortalidad inusualmente elevada entre los pájaros salvajes de la zona. El examen histopatológico demostró que la muerte de dichos animales se producía como consecuencia de lesiones cerebrales y miocárdicas<sup>2</sup>. Estos hechos alertaron a los sistemas de vigilancia epidemiológica que los relacionaron entre sí, descartando al mismo tiempo como agente causal al virus de la Encefalitis de St. Louis, que no afecta las aves. Los estudios histopatológicos y de biología molecular demostraron que el responsable de la enfermedad era el virus de la Fiebre del Oeste del Nilo (West Nile Virus, WNV)<sup>3</sup>. El número total de casos declarados ascendió a 61 (55 probados y 6 probables) lo que provocó una gran alarma social y

desencadenó la puesta en marcha de medidas drásticas para eliminar el vector (mosquito) del agente (virus) al que se atribuyeron estas muertes.

Este virus pertenece a la familia Flaviviridae, ampliamente diseminada en África, y que puede transmitirse al hombre. Las aves constituyen el reservorio principal del WNV y su transferencia a la población humana sucede a través de distintas especies de mosquitos y garrapatas susceptibles a la infección<sup>4</sup>. Identificado inicialmente en Uganda en 1937 en una mujer con fiebre<sup>5</sup>, fue descrito por primera vez en los años 50 como responsable de un brote epidémico en Israel<sup>6</sup>. Aunque los países del nordeste de África constituyen las áreas endémicas por excelencia, se han registrado brotes epidémicos de infección por WNV en puntos alejados del Mediterráneo Oriental como la Camarga francesa<sup>7</sup> y Sudáfrica<sup>8</sup>. Los estudios de seroprevalencia han revelado situaciones de endemia en la población humana de áreas tan diversas como Madagascar<sup>9</sup> y Pakistán<sup>10</sup>, pero nunca antes de 1999 había sido detectado al otro lado del Atlántico. A excepción del brote en la Camarga francesa en los años sesenta, en la mayoría de países de Europa occidental sólo ha podido demostrarse la presencia del virus mediante serovigilancia o como resultado de la búsqueda activa en aves afectadas y en vectores<sup>11</sup>. El último brote declarado ha tenido lugar en Israel, en septiembre de este mismo año, con 151 casos diagnosticados, de los cuales 76 han requerido hospitalización y 12 han sido exitus<sup>12</sup>.

La presencia del WNV en Norteamérica, así como los factores biológicos, medioambientales y ecológicos que han contribuido a este súbito brote en un área tan "inesperada" pertenecen al ámbito de las hipótesis, aunque pueden avanzarse ya algunas explicaciones razonables, relacionadas con el vector de este agente viral y que expondremos a continuación.

## Epidemiología

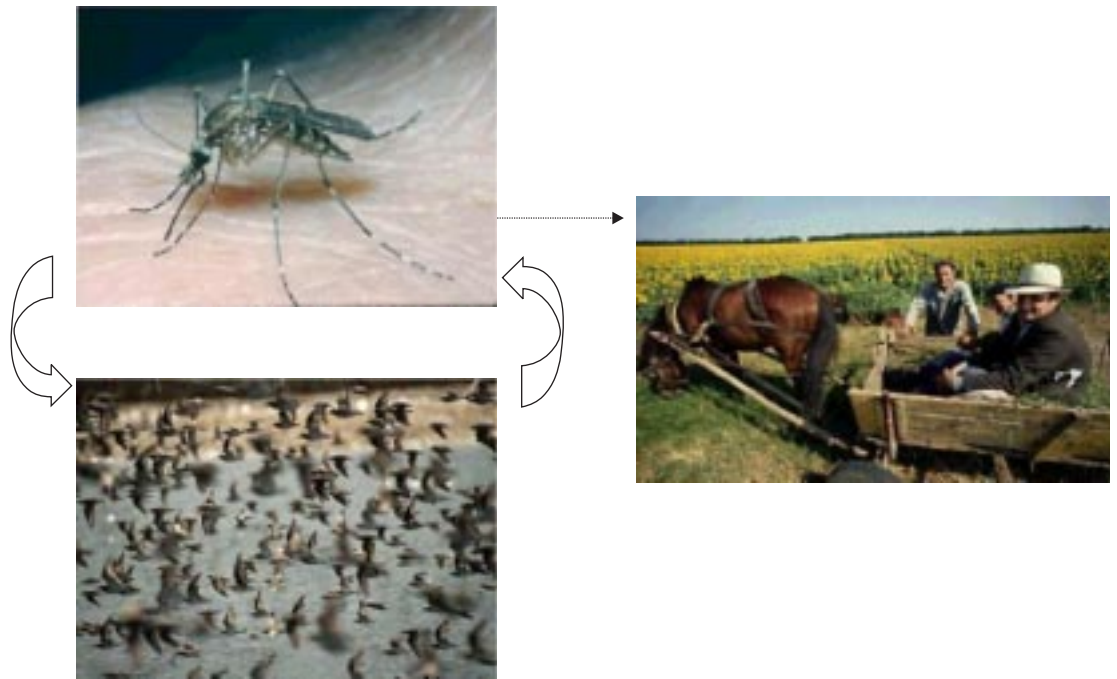
La Fiebre del Oeste del Nilo (West Nile Fever) forma parte del conjunto de enfermedades conocidas con el término "viriasis transmitidas por artrópodos" o arboviriasis. Desde un punto de vista filogenético, todos los arbovirus son virus RNA que se clasifican, según sus características antigénicas, en cuatro grandes familias: *Togaviridae*, *Bunyaviridae*, *Rhabdoviridae* y *Reoviridae*. El WNV pertenece a la familia *Togaviridae* y al género *Flavivirus*, familia *flaviviridae*. Concretando más, el WNV está vinculado al Complejo Antigénico de la Encefalitis Japonesa que in-

cluye los virus de las encefalitis japonesa, de Murray Valley y de St. Louis, Kokobera, Koutango, Kunjin (en Australia y sudeste asiático), Statford, Usutu y al mencionado WNV<sup>13</sup>.

Como en la mayoría de arboviriasis, la enfermedad producida por el WNV es una zoonosis, con reservorio animal, pájaros en este caso, y cuyo vector es un mosquito. El WNV se transmite por la picadura de mosquitos de más de cuarenta géneros diferentes, pero con especial predilección por los del género *Culex*. En África el vector más aislado es *Culex univittatus*, en Europa *Culex pipiens* y en Asia *Culex quinquefasciatus*<sup>13</sup>. Se han descrito también como vectores a mosquitos de los géneros *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Aedes* y *Anopheles* y en otros artrópodos hematofagos del género *Ornithodoros*, *Ryipicephalus* y *Haemophysalis*<sup>14</sup>. La característica común de estas infecciones es que los virus que las producen se multiplican en artrópodos que los inoculan a un huésped vertebrado. Por tanto, las zonas de alta prevalencia o endémicas corresponden a aquellas donde se presentan las condiciones óptimas para la proliferación masiva de los mosquitos vectores: deltas, planicies aluviales, zonas de regadío... Los hábitos migratorios de muchas de las especies de aves capaces de albergar la infección por WNV proporcionan al virus la oportunidad de introducirse en aquellas áreas que, albergando poblaciones estables de algún vector potencial, son refugio estacional de las aves portadoras. Pueden transmitirse al hombre y al caballo, donde su impacto a nivel sanitario es mayor, y a otros vertebrados como lemures o roedores, pero, por lo general, esta transmisión se produce de forma indirecta e incidental ya que ni el ser humano ni los équidos forman parte del ciclo natural de estos virus. Son huéspedes accidentales, que no intervienen en la propagación posterior del virus, lo que significa, en definitiva, un alto en el ciclo biológico de este agente infeccioso o, a lo sumo un papel residual en su mantenimiento y propagación (Figura 1).

Los brotes epidémicos se extienden con celeridad en una comunidad no inmunizada. Cuando ésta responde, se detiene la transmisión que no se volverá a producir mientras no exista un número importante de población susceptible<sup>15</sup>. Situaciones como la que se produjo en Rumania en 1996<sup>16-18</sup> y en Nueva York en 1999<sup>19</sup> alertan sobre la existencia de un número notable de vectores y huéspedes en el entorno. La aparición de unos pocos casos clínicos confirmados sólo representa la punta del iceberg de la verdadera presencia del virus, debido a que la inmensa mayoría de infectados sólo sufren una afectación subclínica o inespecífica que no llega a ser diagnosticada<sup>20</sup>.

Figura 1.  
Ciclo del WNV



Los datos sobre la prevalencia de virus transmitidos por artrópodos en España son escasos<sup>21</sup>, si bien la situación de estos virus en la Península Ibérica se conoce algo mejor merced a los estudios realizados en Portugal<sup>11</sup>, donde se han conseguido aislamientos de WNV en mosquitos del género *Anopheles*<sup>22</sup> y de ortomixovirus y bunyavirus en garrapatas<sup>23</sup>. Además se han detectado anticuerpos en sueros de animales y humanos frente a una larga lista de arbovirus, incluyendo WNV<sup>11</sup>. En España, se han encontrado prevalencias altas de anticuerpos en muestras humanas frente a WNV con títulos elevados en los estudios realizados en Valencia<sup>24</sup>, Galicia<sup>25</sup>, los alrededores del Coto de Doñana<sup>26</sup> y en el Delta del Ebro<sup>21</sup>. Los resultados que se obtuvieron en Galicia y el Delta del Ebro hacen suponer la existencia de brotes epidémicos de infección por WNV en esas regiones durante los años sesenta y finales de los setenta, respectivamente, cuando fueron obtenidas y congeladas las muestras (Figura 2).

## Clínica

El inicio de la enfermedad es súbito, tras un período de incubación de 5 a 15 días, y se caracteriza por un cuadro seudogripal con fiebre moderada o alta, odinofagia, cefalea, lumbalgia, artromialgia y can-

sancio o fatiga. Suele acompañarse de conjuntivitis, erupción cutánea y adenopatías<sup>27</sup>. Habitualmente, los síntomas son inespecíficos y de intensidad moderada<sup>28</sup>.

En los casos graves la encefalitis es el signo príncipes. El líquido cefalorraquídeo obtenido por punción lumbar es claro, o ligeramente rosado por la presencia de hematíes. El examen biomicroscópico muestra en la mayoría de ocasiones un fluido acelular con elevación aislada de las proteínas, compatible con una meningo-encefalitis "aséptica".

Aunque la afectación irreversible del sistema nervioso es rara<sup>29</sup> por debajo de los 50, se han descrito casos en los que la manifestación inicial de la enfermedad fue un síndrome de Guillain-Barré de evolución fatal<sup>30</sup>. También se han descrito casos de hepatitis<sup>31</sup>, pancreatitis<sup>32</sup> y miocarditis<sup>33</sup>. La mayoría de casos fatales se producen en personas mayores de 50 años, especialmente, con enfermedades crónicas subyacentes<sup>34</sup>, sin embargo, también se ha observado algún caso mortal en niños<sup>17, 35</sup>.

El marcado neurotropismo demostrado por las cepas de VNW responsables de los brotes registrados en la cuenca mediterránea en 1996 hace suponer que la circulación del WNV en esta región debe traducirse en la aparición de casos de meningitis y encefalitis vírica que quedan sin diagnóstico

etiológico<sup>16</sup>. Así, en el brote detectado en el sudeste de Rumania entre julio y octubre de 1996<sup>17,36</sup>, de 835 pacientes admitidos en el hospital con sospecha de infección del sistema nervioso central, 767 fueron diagnosticados clínicamente de posible WNV. De éstos, 352 (80%) fueron confirmados por pruebas serológicas; y a ellos se añadieron 41 casos más entre pacientes que no cumplían criterios clínicos. Esto significa una incidencia de 4/100.000 habitantes en los distritos afectados con una tasa de ataque en la ciudad de Bucarest de 12,4/100.000. La extrapolación del estudio de seroprevalencia demostró que entre 43.000 y 96.000 habitantes habían estado en contacto con el WNV, por lo que la tasa estimada de infección clínica y subclínica fue de 1/140-320.

Por estudios de seroprevalencia se ha calculado que, durante el brote detectado en Nueva York<sup>37</sup>, unas 1.256 personas estaban infectadas por el WNV. El número de casos entre jóvenes (< 25 años) fue relativamente pequeño (18%) y la infección transcurrió de forma subclínica con una relación aproximada de 4 a 1. Durante dicho brote, el 30% de seropositivos recordaban haber tenido una enfermedad febril en los 3 meses precedentes, comparado con el 11% de los seronegativos ( $p < 0,05$ ). Todos refirieron mialgias (100%) y, con frecuencia decreciente, cefalea (89%), fatiga (87%) y artralgias (76%).

## Diagnóstico

1. La única arma eficaz para la detección precoz de la enfermedad es la sospecha clínica ante cualquier encefalitis que ocurra en personas que habiten o hayan visitado áreas endémicas o con historia de exposición a aves migratorias o a otros animales de riesgo. En pacientes de estas características, los análisis de rutina y el estudio microbiológico del líquido cefalorraquídeo deben incluir serologías para flavivirus<sup>38</sup>. Sin embargo, ninguno de los pacientes fallecidos por complicaciones del WNV en Nueva York tenía historia de viajes recientes a zonas endémicas<sup>1</sup>.
2. Supeditado a la sospecha clínica, el laboratorio confirma el diagnóstico por la detección mediante técnicas de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) de IgG e IgM frente a flavivirus. Existen pruebas ELISA específicas para la detección de antígeno viral, así como técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) para detectar ARN viral.



**Figura 2.**  
Distribución del WNV en Europa.  
En sombreados: áreas endémicas.  
Los puntos indican los brotes declarados

3. Estudios histopatológicos. La sospecha de infección por WNV puede ser eventualmente confirmada en pacientes fallecidos por encefalitis mediante técnicas de inmunohistoquímica y PCR en tejido cerebral. Se recomienda remitir al laboratorio especializado muestras de páncreas, hígado, bazo, corazón, pulmón y riñones para estudio convencional y específico<sup>39</sup>. Las muestras de sistema nervioso central deberían incluir médula y raíces nerviosas. La histología convencional demuestra cambios citopáticos compatibles con la infección por WNV en los órganos principalmente afectados (corazón y sistema nervioso central), y las técnicas de biología molecular determinan la presencia del virus en la muestra. Obviamente, el estudio histopatológico siempre es tardío, ya que implica la obtención de las muestras postmortem (animales y personas) o en pacientes críticos.

## Tratamiento

Las infecciones por flavivirus no tienen tratamiento específico, sólo sintomático<sup>40</sup>. Los casos leves con sintomatología seudogripal responden habitualmente a los antitérmicos y a medidas de soporte como el reposo domiciliario y la hidratación abundante. Los pacientes graves, que requieren ingreso hospitalario, frecuentemente necesitan soporte ventilatorio (encefalitis, polirradiculoneuritis). Las secuelas neurológicas inmediatas suelen mejorar con el paso del tiempo, aunque precisan rehabilitación motora. Algunos pacientes presentan debilidad muscular persistente, residual. Recientemente se ha propuesto la ribavirina, un fármaco antivírico que ha demostrado efectividad *“in vitro”*, a altas dosis para el tratamiento de la enfermedad<sup>41</sup>.

## Vigilancia, prevención y control de la infección por WNV

El control y la prevención del WNV están dirigidos principalmente hacia sus vectores y huéspedes<sup>42</sup>. Esto significa una vigilancia activa de las aves para detectar posibles mortandades entre las poblaciones salvajes que servirían como centinelas de la eventual presencia del WNV, así como la vigilancia activa del mosquito vector y la identificación de otros potenciales vectores en una zona concreta. Finalmente, es importante potenciar la vigilancia epidemiológica pasiva tanto en animales de granja<sup>43</sup> (veterinaria) como en seres humanos. En el ámbito veterinario debe potenciarse la declaración de enfermedades neurológicas en animales, especialmente aves y caballos, estos últimos por ser los únicos mamíferos que, en su relación con el hombre, pueden infectarlo con el WNV. En humanos debería implementarse la declaración obligatoria de los casos de encefalitis y meningitis asépticas sin diagnóstico etiológico<sup>16,44</sup>.

### El futuro

El WNV causa casos esporádicos, *clusters* y epidemias entre humanos aun en zonas templadas de Europa. Factores ambientales<sup>45</sup>, incluyendo las actividades humanas, favorecen la creación del nicho ecológico que el virus necesita para establecer su ciclo: regadío intensivo, fuertes lluvias, inundaciones y aumento global de las temperaturas.

Queda por esclarecer como desde zonas cálidas el WNV ha llegado establecerse en latitudes templadas. En Europa Occidental parece clara la introducción constante o intermitente a través de aves migratorias procedentes de zonas tropicales o subtropicales. Otras posibilidades que se barajan en el caso de brotes en zonas templadas es la llegada del vector infectado en aviones, en animales importados infectados que desarrollan una intensa viriasis o hasta en los mismos hombres.

Para explicar cómo persiste el virus en un medio que hasta ahora no le era propio pueden aducirse las condiciones ambientales citadas y la capacidad biológica del virus y del vector para sobrevivir las estaciones frías<sup>46</sup>, por ejemplo, a través de la demostrada transmisión vertical. No se sabe a ciencia cierta qué relevancia puede tener la capacidad hibernante de ciertos vectores o la presencia de ciclos vitales más "exóticos" como el rana-artrópodo vector<sup>47</sup>.

De todas formas, y añadiendo la movilidad de la población humana que implica la globalización a todos los factores mencionados, el WNV sólo es un ejemplo de lo que será el futuro de las infecciones transmisibles: la emergencia de enfermedades desconocidas, la reemergencia de otras en países donde estaban ya expurgadas y la aparición de cepas de ciertos microorganismos procedentes de otras latitudes (malaria, dengue, tuberculosis multiresistente...).

El abordaje de todas estas enfermedades necesitará una visión global y multidisciplinar que ayude a comprender su emergencia y propagación y a establecer las medidas de control y prevención adecuadas.

### Bibliografía

1. Asnis DS, Conetta R, Teixeira AA, Waldman G, Sampson BA. The West Nile virus outbreak of 1999 in New York: The Flushing Hospital experience. *Clin Infect Dis* 2000;30:413-8.
2. Steele KE, Linn MJ, Schoepp, Komar N, Geisbert TW, Manduca RM, Calle PP, Raphael BL, Clippinger TL, Larsen T, Smith J, Lanciotti RS, Panella NA, McNamara TS. Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds of the 1999 outbreak in New York City, New York. *Vet Pathol* 2000;37:208-24.
3. Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, Crise B, Volpe KE, Crabtree MB, Scherret JH, Hall RA, MacKenzie JS, Cropp CB, Panigrahy B, Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T, Gubler DJ. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in northeastern United States. *Science* 1999;286:2333-7.
4. Zeller HG. West Nile virus: Une arbovirose migrante d'actualité. *Med Trop* 1999;59:490-4.
5. 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;20:471-92.
6. Marberg K, Goldblum N, Sterk V, Jasnika-Klingberg W, Klingberg M. The natural history of West Nile fever: Clinical observations during an epidemic in Israel. *Am J Hyg* 1956;64:259-69.
7. Pantier R. Epidemiology of the West Nile virus: study of an outbreak in Camargue. *Ann Inst Pasteur* 1968; 114:518-20.
8. McIntosh B, Jupp P, dos Santos I, Meenehan G. Epidemics of West Nile and Sindbis in South Africa with *Culex univittatus* Theobald as vector. *S. Afr J Sci* 1976;295-300.
9. Morvan J, Chin LH, Fontenille D, Rakotoarivony I, Coulanges P. Prevalence of antibodies to West Nile

- virus in youngsters from 5 to 20 years old in Madagascar. *Bull Soc Pathol Exot* 1991;84:225-34.
10. Sugamata M, Ahmed A, Miura T, Takasu T, Kono R, Ogata T, Kimura-Kuroda J, Yasui K. Seroepidemiological study of infection with West Nile virus in Karachi, Pakistan, in 1983 and 1985. *J Med Virol* 1988; 26:243-7.
  11. Filipe AR, Rebelo de Andrade H. Arboviruses in the Iberian Peninsula. *Acta Virol* 1990;34:582-91.
  12. WHO. *Diseases Outbreaks Reported. West Nile fever in Israel*. 22 September 2000.
  13. Karabatsos N, editor. International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates. 3rd ed., and Supplements 1986-98. San Antonio: *American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1985.
  14. Peiris JSM, Amerasinghe FP. West Nile fever. En: Beran GW, Steele JH, editors. *Handbook of zoonoses*. Section B: Viral. 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press; 1994: 139-48
  15. Shulman LM, Handsheer R, Yang CF, Yang SJ, Manor J, Vonsover A, Grossman Z, Pallansch M, Mendelson E, Kew OM. Resolution of the pathways of poliovirus type 1 transmission during an outbreak. *J Clin Microbiol* 2000;38:945-52.
  16. Anónimo. Viral meningitis. *Wkly Epidemiol Rec* 1996; 71:296.
  17. Le Guenno B, Bugermonth A, Azzam T, Bouakaz R. West Nile: a deadly virus? *Lancet* 1996;348:1315.
  18. Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis in southeastern Romania. *The Lancet* 1998;352:767-71
  19. Shieh WJ, Guarner J, Layton M, Fine A, Miller J, Nash D, Campbell GL, Roehring JT, Gubler DJ, Zaki SR. The role of pathology in an investigation of an outbreak of West Nile Encephalitis in New York, 1999. *Emerg Infect Dis* 2000;6:370-2.
  20. Holloway M. Outbreak not contained. West Nile virus triggers a reevaluation of public health surveillance. *Sci Am* 2000;282:20-2.
  21. Lozano A, Filipe AR. Anticuerpos frente a virus West Nile y otros virus transmitidos por artrópodos en la población del Delta del Ebro. *Revista Española de Salud Pública* 1998;72:3.
  22. Filipe AR, Casals J. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta Virol* 1972;16:361.
  23. Filipe AR, Casals J. Isolation of Dhori virus from *Hyalomma marginatum* ticks in Portugal. *Intervirology* 1979;11:124-7.
  24. Sanchís-Bayarri V. Contribución al estudio de la serología de las infecciones por Arbovirus. *Hospital General* 1974;14:417-24.
  25. Garea MI, Filipe AR. Antibodies to arboviruses in northwestern Spain. *Am J Trop Med Hyg* 1977;26: 792-797.
  26. Lozano A. Arboviruses in Spain. En "Arboviruses in the Mediterranean countries". J Vesenjak-Hirjan ed. Gustav Fisher Verlag. Stuttgart 1980.
  27. Monath T, Heinz FX. Flaviviruses, in Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds): *Virology*. New York, NY, Raven Press 1996:1004-6.
  28. Sampson BA, Ambrosi C, Charlot A, Reiber K, Veress JF, Armbrustmacher V. The pathology of human West Nile Virus infection. *Hum Pathol* 2000; 31:527-31.
  29. Nichter CA, Pavlakis SG, Shaih U, Cherian KA, Dobroszycki J, Porricolo ME. Rhombencephalitis caused by West Nile Fever virus. *Neurology* 2000;55:153.
  30. Ahmed S, Libman R, Wesson K, Ahmed F, Einberg K. Guillain-Barré syndrome: An unusual presentation of West Nile virus infection. *Neurology* 2000;55:144-6.
  31. Georges AJ, Lesbordes JL, Georges-Courbot MC. Fatal hepatitis from West Nile virus. *Ann Int Pasteur/Virol* 1987;138:237-44.
  32. Perelman A, Stern J. Acute pancreatitis in West Nile fever. *Am J Trop Med Hyg* 1974;23:1150-2.
  33. Albagalic CR. A case of West Nile myocarditis. *J Med Assoc Israel* 1959;57:274-5.
  34. Siegel-Itzkovich J. Twelve die of West Nile virus in Israel. *BMJ* 2000;321:7263:4A.
  35. George S, Gourie-Devi M, Rao JA. Isolation of West Nile virus from the brains of children who died of encephalitis. *Bull World Health Organ* 1984;879-82.
  36. Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever, a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999;5:643-50.
  37. Update: West Nile Virus Activity. Northeastern United States, 2000. *MMWR*. September 15, 2000;49(36): 820-2.
  38. Briese T, Glass WG, Lipkin WI. Detection of West Nile virus sequences in cerebrospinal fluid. *Lancet* 2000; 335:1614-5.
  39. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase technique: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29:577-80.
  40. Leyssen P, De Clercq E, Neyts J. Perspectives for the treatment of infections with Flaviviridae. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:67-82.
  41. Jordan I, Briese T, Fischer N, Lau JY, Lipkin WI. Ribavirin inhibits West Nile virus replication and cytopathic effect in neural cells. *J Infect Dis* 2000; 182:1214-7.
  42. Guidelines for surveillance, prevention and control of West Nile virus infection - United States. *MMWR* 2000;49:25-28.

43. Senne DA, Pedersen JC, Hutto DL, Taylor WD, Schmitt BJ, Panigrahy B. Pathogenicity of West Nile virus in chickens. *Avian Dis* 2000;44:642-9.
44. Echevarría JM, Casas I, de Ory F, Tenorio A, Echevarría C, Lozano A. Diagnóstico de laboratorio en casos de encefalitis aguda y subaguda de posible etiología vírica. *Neurología* 1997;12:381-3.
45. Reeves WC, Hardy JL, Reisen WK, Milby MM. Potential effect of global warming on mosquito-borne arboviruses. *J Med Entomol* 1994;310:323-32
46. Cornel AJ, Jupp PG, Blackburn NK. Effect of environmental temperature on the vector competence of *Culex univittatus* (Diptera, Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol* 1993;30:449-56.
47. Kostyukov MA, Alekseev AN, Bulychev VP, Gordeeva ZE. Experimental infection of *Culex pipiens* mosquitoes with West Nile virus by feeding on infected *Rana ridibunda* frogs and its subsequent transmission. *Med Parazitol* (Mosk) 1986;6:76-8