

Infecção por Vírus do Nilo Ocidental em Portugal

Kamal Mansinho[1], Saraiva da Cunha[2]

1 Assistente Hospitalar Graduado de Infecciologia e Director do Serviço de Doenças Infecciosas e Medicina Tropical do Hospital Egas Moniz, SA. Professor Auxiliar Convidado do Instituto de Higiene e Medicina Tropical.
2 Chefe de Serviço de Infecciologia e Director do Serviço de Doenças Infecciosas dos Hospitais da Universidade de Coimbra. Professor Associado com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

RESUMO

O Vírus do Nilo Ocidental (VNO) é um Flavivirus transmitido por mosquitos com capacidade para infectar o homem, os equinos e as aves. O vírus é endémico em África, Ásia, Europa e Austrália, e recentemente foi responsável por importantes epidemias na Roménia, Rússia, Israel e Estados Unidos da América. Em Portugal, a presença do VNO é conhecida desde o ano de 1967, embora seja escassa a informação sobre a existência de casos humanos. Recentemente, foi descrita a infecção por VNO em dois turistas irlandeses aparentemente infectados durante as férias no Algarve.

As aves são o reservatório natural da infecção e o vírus é mantido na natureza num ciclo que envolve os mosquitos, principalmente da espécie Culex e as aves. A maioria das infecções em humanos são subclínicas, mas as formas sintomáticas podem abarcar desde a benigna Febre do Nilo Ocidental até formas fatais de meningoencefalite; a gravidade da doença neurológica e a morte correlacionam-se com a idade do doente. O diagnóstico continua a basear-se nos testes serológicos e, por enquanto, não dispomos de tratamento específico nem de uma vacina.

A prevenção baseia-se em medidas de protecção individual contra as picadas de mosquitos associadas ao combate ao vector no meio ambiente e às campanhas de informação.

SUMMARY

West Nile Virus (WNV) is a mosquito-borne Flavivirus that can infect humans, equines, and birds. The virus is indigenous to Africa, Asia, Europe, and Australia, and has recently caused large epidemics in Romania, Russia, Israel and the Unites States of America. In Portugal, the presence of WNV is known since 1967, but human cases have not been reported. Recently, WNV infection has been diagnosed in two Irish tourists that apparently were infected in the Algarve.

Birds are the natural reservoir hosts, and WNV is maintained in nature in a mosquito-bird-mosquito transmission cycle primarily involving Culex sp mosquitoes. Most human WNV infections are subclinical but clinical infections can range in severity from uncomplicated WNV fever to fatal meningoencephalitis; the incidence of severe neuroinvasive disease and death increases with age. Serology remains the mainstay of laboratory diagnosis and no WNV-specific treatment or vaccine are available. Prevention depends on avoiding mosquito bites and on organized vector control, and public education.

O alerta lançado pela Rede Europeia de Saúde, em 21 de Julho de 2004, sobre a provável transmissão do Vírus do Nilo Ocidental (VNO) a dois cidadãos irlandeses, um homem de 54 anos e uma mulher de 51 anos, que permaneceram de férias no Algarve, na região da Ria Formosa, alarmou a população portuguesa e despertou a curiosidade da comunidade científica nacional, tendo sido motivo de inúmeras notícias (algumas com incorrecções grosseiras) nos órgão de comunicação social. Embora este vírus tenha já sido objecto de estudo, entre nós, por alguns reconhecidos virologistas, com especial destaque para o Professor Armindo Filipe, não tem merecido a correspondente atenção por parte dos clínicos, motivo que justifica esta sucinta actualização.

CARACTERIZAÇÃO DO VÍRUS

O vírus do Nilo Ocidental (conhecido n literatura anglo-saxónica por West Nil virus) foi identificado em 1937, no Ugan da, tendo sido isolado de uma mulh com uma síndrome febril residente r província de West Nile (donde resultou denominação por que é conhecido es vírus) [1]. Pertence à família Flaviviridá género Flavivirus, estando incluído complexo antigénico do vírus da ence lite japonesa, que engloba ainda os guintes vírus: Cacipacore, Koutan Encefalite de Murray Valley, Encefalite St. Louis, Usuto, Yaounde e Encefalite ponesa [2]. O VNO é um vírus de si tria cúbica, com 50 nm de diâmetr

que tem um invólucro lipídico. Possui um genoma RNA com aproximadamente 11000 nucleótidos, de polaridade positiva, constituído por uma única molécula com o peso aproximado de $4x10^6$ Da. Replica-se no citoplasma das células que infectam e exterioriza-se através da membrana celular por um processo de gemulação [3].

Análises filogenéticas ao genoma extraído de diferentes estirpes de VNO permitiram identificar duas linhagens distintas: a linhagem tipo 1 é a responsável pela maioria das infecções humanas e distribui-se universalmente, encontrando-se em África, na Europa, na América e na Austrália (país onde este vírus é conhecido pela denominação de vírus Kunjin); a linhagem tipo 2 está confinada a estirpes zoonóticas, circulando apenas em África, e que muito raramente infecta o homem (por serem menos virulentas?)[4].



1

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E EPIDEMIOLOGIA

Desde a descoberta do VNO em África sucederam-se as descrições da sua presença em vários países europeus, do Médio Oriente, asiáticos e na Austrália, sendo mesmo considerado o Flavivírus com maior dispersão geográfica. No ano de 1999 o vírus foi introduzido (com origem em Israel, mas discute-se ainda o veículo responsável) na América do Norte, onde encontrou condições muito favoráveis à sua implantação, tendo nos anos seguintes disseminado por praticamente todos os estados dos EUA, pelo Canadá, México e alguns países das Caraíbas [5].

Na Europa, a primeira descrição da seropositividade para o VNO ocorreu em dois doentes albaneses no ano de 1958 [6], sendo as primeiras estirpes europeias isoladas no ano de 1962, de casos humanos e de mosquitos, em França [6]. Vários surtos, envolvendo casos humanos, ocorreram em diferentes países do centro e sul da Europa, entre os anos 60 e 90 do século passado: em Espanha, França e países do leste da Europa, desde a República Checa até à Rússia. Posteriormente, relataram-se importantes surtos na Argélia (em 1994), na Roménia (em 1996), na Tunísia (em 1997), na Rússia (em 1999, 2000 e 2001) e em Israel (em 2000) [7].

Em 2003, a rede de vigilância epidemiológica criada no sul de França, permitiu identificar o VNO como responsável por 6 casos humanos na costa mediterrânica deste país [8]. No mês de Setembro de 2004 registaram-se novamente alguns casos de infecção, em equinos, nesta mesma região.

Em Portugal, a presença do VNO foi pressentida no ano de 1967, quando o Professor Armindo Filipe encontrou soros reactivos em animais no sul do país [9]. Posteriormente o vírus foi identificado em mosquitos Anopheles maculipennis capturados na mesma região [10].

Estudos de seroprevalência em populações humanas mostraram positividade para o VNO em 2,8% dos soros obtidos no concelho de Serpa, 6,6% em Cantanhede e 9,3% em Évora. Um estudo nacional abrangendo 1374 militares mostrou, nesta população, uma taxa de 2,9% de indivíduos reactivos para o VNO [11].

O sistema de vigilância recentemente implantado pela Direcção Geral da Saúde no Algarve, na sequência do alerta lançado pelas autoridades de saúde europeias, permitiu identificar a presença do VNO em mosquitos capturados em vários locais desta região [12].

TRANSMISSÃO DO VÍRUS

Estudos ecológicos realizados entre 1952 e 1954 no distrito de Sindbis, no Egipto, permitiram clarificar o ciclo evolutivo do VNO, que engloba os mosquitos (como vectores), as aves (como hospedeiros de amplificação da infecção) e alguns mamíferos, como o homem e os cavalos (que funcionam como hospedeiros acidentais e terminais) [7].

O leque de mosquitos potencialmente envolvidos no ciclo do vírus é imenso (identificadas, pelo menos, 75 espécies), sendo na Europa os géneros Culex (Cx. pipiens e Cx. modestus) e Coquillettidia (Coquillettidia richiardii) os mais importantes [6]. As espécies ornitofílicas adaptadas às aves selvagens perpetuam o ciclo na natureza (ciclo rural ou silvático), enquanto as que preferem as aves domésticas e simultaneamente picam o homem são responsáveis pelo ciclo urbano (como o que se verificou na capital da Roménia, em 1996).

O VNO tem sido também encontrado em carraças, embora se desconheça qual o

seu papel na epidemiologia da doença (facilitadoras da manutenção do vírus em nichos ecológicos?).

Também o número de aves susceptíveis à infecção pelo VNO é enorme; na sua maioria, após ligeira (ou ausente) sintomatologia resulta uma imunidade definitiva, mas, em muitas outras, pode originar a morte do animal. Nos Estados Unidos da América, o aparecimento inesperado de um número anormal de aves mortas é tido como um sinal de alerta para a presença deste vírus [13].

O VNO foi encontrado em mamíferos, anfíbios e répteis. O único mamífero que parece ter alguma relevância epidemiológica são os cavalos, em que a viremia elevada e persistente facilita a transmissão do vírus.

Esporadicamente, têm sido referidas outras formas de transmissão do VNO ao homem, sem o recurso aos vectores tradicionais [1]:

- "In utero"
- Amamentação
- Exposição profissional
- Transfusão
- Transplantação

Contudo, estas formas menos habituais de transmissão justificaram a adopção nos EUA, desde o ano de 2003, de medidas de controlo nos centros de transfusão e na selecção dos dadores de órgãos para transplante.

A Europa, particularmente os países mediterrânicos, com muitos locais que constituem pontos de passagem e de destino de aves migradoras originárias de África, é uma zona de risco para a potencial reemergência da infecção pelo VNO, bem como de outros arbovírus. Em Portugal, o aparecimento do VNO e a intensidade da sua circulação na comunidade, capaz de constituir uma ameaça para a saúde animal e humana, são actualmente imprevisíveis, porque dependem da conjugação de múltiplos factores, entre os quais os ecológicos e climáticos. É suposto que a transmissão ocorra, coincidindo com o período de maior actividade dos mosquitos vectores, entre os meses de Julho e Setembro.

O sistema de vigilância criado pela Direcção Geral da Saúde inclui a monitorização dos potenciais hospedeiros-reservatórios e dos hospedeiros acidentais, e abrange quatro áreas fundamentais [14]:

- Vigilância entomológica
- Vigilância das aves
- Vigilância dos mamíferos, particularmente dos equídeos
- Vigilância humana.

Na ausência de casos confirmados de febre provocada por VNO, a suspeição de uma epidemia (ou de grupos de casos) poderá ser corroborada recorrendo à relação entre os casos suspeitos assinalados por este sistema e os casos suspeitos esperados em determinado momento, de acordo com as bases de dados disponíveis (por exemplo, GDH das meningites e encefalites por vírus ou agentes não identificados, entre outros) [14, 15].

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A maior parte das infecções humanas por VNO são clinicamente inaparentes, aproximadamente 20% dos infectados apresentam doença ligeira e autolimitada (febre do Nilo Ocidental), cuja duração é de cerca de 3 a 6 dias e, aproximadamente, 1 em cada 150 doentes desenvolve manifestações neurológicas graves (Quadro I).

Febre do Nilo Ocidental [5,14,16,17]

O período de incubação da doença não está claramente definido, admitindo-se que se situa entre 3 e 14 dias após exposição a mosquitos infectados (em regra é de 3-6 dias).

De acordo com os dados recolhidos a partir dos surtos mais recentes de infecção por VNO, a forma ligeira desta infecção caracteriza-se pela presença de uma doença febril com início abrupto, muitas vezes acompanhada de: mal-estar, anorexia, náuseas, vómitos, dor ocular, cefaleias, mialgias, erupção cutânea e linfadenomegalia.

Recentemente, foi posta em causa por Watson e Col. [18] a pretensa "benignidade" da Febre do Nilo Ocidental em doentes residentes nos EUA. Quando investigaram as consequências da doença em 98 doentes, concluíram que algumas queixas persistiam por mais de 30 dias em 63% dos casos e que a abstinência ao trabalho ou à escola foi, em média, de 10 dias em 79% dos atingidos.

Infecção grave por vírus do Nilo Ocidental [5,14,16,17]

O factor de risco mais frequentemente associada a doença neurológica grave é a idade avançada. A encefalite tem sido mais frequentemente referida do que a meningite.

De acordo com a informação clínica recolhida a partir dos surtos mais recentes, os sintomas associados a infecção grave nos doentes hospitalizados incluem: febre, fraqueza, sintomas gastrointestinais e alterações do estado de consciência.

Uma minoria de doentes com infecção grave desenvolve erupção cutânea maculopapular ou morbiliforme, atingindo o pescoço, tronco, membros superiores ou membros inferiores.

Vários doentes manifestam fraqueza muscular muito intensa e paralisia flácida, uma manifestação neurológica particularmente sugestiva de infecção por VNO [19]. Os quadros neurológicos diagnosticados no momento de admissão incluem: ataxia e sinais extra-piramidais, parésia dos nervos cranianos, mielite, polirradiculite, convulsões e nevrite óptica.

Ainda que não tenham sido descritos nos surtos mais recentes de infecção por VNO, foram referidos, no passado, casos de miocardite, de pancreatite e de hepatite fulminante associados à infecção por este vírus.

Suspeição clínica

O diagnóstico de infecção por VNO é baseado num elevado índice de suspeição e nos resultados dos exames laboratoriais específicos [14,17].

A infecção por VNO ou outra infecção por arbovírus deve ser fortemente considerada em adultos com idade ≥ 50 anos que desenvolvem encefalite ou meningite, por agente não identificado, no Verão ou no início do Outono. A presença de actividade enzoótica do VNO ou de outros casos humanos reforça o índice de suspeição clínica. A colheita de história detalhada de viagens e de deslocações internas é fundamental.

Quadro I
Particularidades clínicas essenciais da infecção humana por VNO [14,16,17]

- A infecção por vírus do Nilo Ocidental é transmitida através da picada de um mosquito com um elevado potencial de expansão geográfica.
- Uma em cada 5 pessoas infectadas desenvolve doença febril e 1 em cada 150 desenvolve meningite, encefalite ou meningoencefalite.
- A idade superior ou igual a 50 anos é o factor de risco mais frequentemente associado com doença neurológica grave, morbilidade no longo prazo e mortalidade. Alguns dados sugerem que comorbilidades tais como diabetes mellitus, imunodepressão e tumores são factores independentes associados com a mortalidade.
- A constatação de aves infectadas por vírus do Nilo Ocidental, em conjunto com o desenvolvimento de quadros de meningite ou de encefalite no verão ou no início do Outono e a fraqueza muscular intensa, são factores de suspeição diagnóstica importantes.
- A pesquisa de anticorpos Ig M no líquor ou no sangue periférico, efectuada por ELISA, é o método de diagnóstico inicial mais eficiente; este exame deve ser solicitado ao Centro de Estudos dos Vectores e Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Na interpretação dos resultados, ter em atenção que infecções por outros flavivírus (por exemplo, dengue) e vacinação recente contra a febre amarela e contra a encefalite japonesa poderão ser responsáveis por resultados falsamente positivos.
- A imediata notificação dos casos suspeitos para a Autoridade Regional de Saúde Pública é fundamental para o desencadeamento rápido das medidas de controlo de saúde pública.

Note-se, contudo, que a infecção grave por VNO com envolvimento neurológico foi descrita em qualquer grupo etário [17] e que em algumas regiões do Globo, a transmissão deste vírus pode verificar-se durante o ano inteiro. Portanto, o diagnóstico de infecção por VNO deve ser admitido em qualquer doente, incluindo crianças, com meningite ou com encefalite por agente não identificado [14,17].

Definição de caso para efeitos de saúde pública [14]

- Caso suspeito: qualquer pessoa da população alvo, internada ou não, que procure cuidados médicos por febre com início súbito e manifestações neurológicas sugestivas de encefalite ou de meningite, ou por febre com início súbito e qualquer manifestação neurológica aguda atípica, sem qualquer causa identificada.
- Caso provável: qualquer caso suspeito que apresente ou título de anticorpos Ig M contra o VNO no soro, ou título de anticorpos Ig G contra o VNO no soro em fase de convalescença e, posteriormente, confirmado por um teste de neutralização.
- Caso confirmado: qualquer caso suspeito no qual tenha sido isolado o VNO, ou identificado antigénios ou sequências de nucleótidos daquele vírus, no soro ou no líquor, ou identificação de anticorpos Ig M contra o VNO no líquor, ou aumento de quatro vezes no título de anticorpos neutralizantes contra o VNO, no soro ou no líquor, em duas colheitas efectuadas com intervalo de duas a três semanas, ou ainda título elevado de anticorpos Ig M e Ig G contra o VNO, no soro e confirmados por teste de neutralização na mesma amostra.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Os testes específicos para o diagnóstico serológico de infecção por VNO, em humanos, são efectuados no Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas (CEVDI) do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge [14].

- O método de diagnóstico mais eficiente é a detecção pela técnica MAC-ELISA, de anticorpos Ig M contra o VNO, no soro ou no líquor, nos primeiros 8 dias após o início dos sintomas [16,17].
- A presença de anticorpos Ig M no líquor é fortemente sugestiva de infecção do sistema nervoso central por aquele vírus, porque os anticorpos Ig M não atravessam a barreira hematoencefálica, sendo pois de produção local [16,17]. Estes anticorpos podem persistir por longo período de tempo, podendo permanecer detectáveis após 199 dias de doença [20].
- Doentes que tenham sido vacinados recentemente contra a febre amarela ou contra a encefalite japonesa e aqueles que tenham contraído infecção por outros flavivírus (por exemplo, dengue) podem apresentar resultados positivos falsos, na serologia por MAC-ELISA [16, 17].

Os achados laboratoriais verificados nos exames de rotina nos doentes infectados pelo VNO incluem:

- Contagem de leucócitos totais no sangue periférico normal ou ligeiramente aumentada, com linfopenia e, em alguns casos, anemia [16].
- Hiponatremia em alguns doentes, particularmente, naqueles com encefalite.
- Exame citoquímico do líquor: pleocitose (30-100 células/µl), geralmente, com predomínio de linfócitos, proteinorraquia aumentada (80-105 mg/dl) em todos os doentes e glicorraquia normal [5,16,17].
- A tomografia computorizada cranioencefálica não revela sinais de doença aguda e a ressonância magnética nuclear pode ser normal durante o período inicial de encefalite. A partir do 8º dia de doença, começam a ser visíveis sinais de envolvimento progressivo da substância cinzenta profunda, na ressonância magnética nuclear [16].

TRATAMENTO

Até há data, não há fármacos comprovadamente eficazes in vivo no tratamento da infecção por VNO [5,16].

O tratamento inclui medidas de suporte, muitas vezes em regime de internamento, com administração endovenosa de soros, correcção electrolítica, suporte ventilatório, quando indicado, e prevenção das infecções secundárias, nomeadamente, nosocomiais nos doentes internados.

A Ribavirina, em altas doses, e o interferão alfa 2b mostraram alguma actividade in vitro contra o VNO, mas não há estudos controlados que confirmem a eficácia

destes fármacos, ou de outros (corticosteróides, imunoglobulinas, anticonvulsivantes, agentes osmóticos) no tratamento da encefalite por este vírus [5,16, 21].

PREVENÇÃO

Na ausência de uma vacina humana eficaz, a prevenção da infecção por VNO, nos humanos, repousa em duas estratégias fundamentais [17]:

1. Redução do número de insectos vectores através de acções tomadas por autoridades de saúde pública e municipais, com o objectivo de eliminar os criadouros, controlar o desenvolvimento das larvas dos mosquitos (larvicidas químicos ou biológicos) e reduzir o índice de anofelismo (pulverização do meio ambiente com insecticidas)
2. Prevenção da picada dos insectos em humanos através de:
   a. Aplicação de repelentes contendo dimetilmetatoluamida (DEET) numa concentração entre 20% e 50%, que deve ser repetida de acordo com a concentração do princípio activo [22, 23]:
      i. Produtos contendo DEET numa concentração de 23,8% asseguram, em média, 5 horas de protecção contra a picada dos mosquitos, daí que a aplicação do repelente deva ser efectuada de 5/5 horas.
      ii. Produtos contendo DEET numa concentração de 20% oferecem uma protecção de, aproximadamente, 4 horas contra a picada dos mosquitos, pelo que a aplicação do repelente está preconizada em cada 4 horas.
      iii. Produtos contendo DEET numa concentração de 6,65% a protecção contra a picada dos mosquitos é de cerca de 2 horas, daí que a aplicação do repelente deva ser efectuada de 2/2 horas. Esta é a concentração de DEET mais adequada para as crianças de tenra idade.
      iv. As crianças não deverão aplicar repelentes com concentrações de DEET superiores a 10%.
      v. Não está recomendada a aplicação de repelentes nas crianças com idade inferior a 2 meses [24].
   b. Evicção dos locais onde os mosquitos vectores picam mais frequentemente o homem, particularmente, durante o entardecer e o amanhecer [5,14,17].
   c. Utilização de meios de protecção física tais como roupa adequada para diminuir a exposição corporal à picada dos insectos (camisas de manga comprida, calças,...), uso de redes de protecção nas janelas das casas, uso de redes mosquiteiras correctamente colocadas sobre o leito (muito úteis sobretudo para as crianças a quem não se pode aplicar repelentes) [5,14,17].

O FUTURO

Face aos múltiplos factores (virulência do agente, abundância de hospedeiros, diversidade de vectores, condições climáticas) envolvidos na transmissão do VNO, prever qual será a evolução da infecção no nosso, como noutros países, é pura futurologia [25]. A avassaladora expansão do VNO nos Estados Unidos da América, após a sua introdução neste país há escassos 5 anos, bem evidenciada nos mapas que nos são apresentados por Petersen e Hayes [26], é motivo de espanto e de alguma inquietação; estudos serológicos permitem estimar que cerca de 940000 pessoas tenham sido infectadas e que 190000 tenham apresentado manifestações clínicas resultantes desta infecção.

Indiscutivelmente, condições favoráveis à sua implantação existem em regiões de Portugal, particularmente no sul, mas apenas uma vigilância atenta das autoridades de saúde humana e veterinária poderão determinar a importância que este vírus pode vir a ter entre nós. A circunstância de ser conhecida a sua presença no país desde há longos anos, sem que haja conhecimento de casos humanos ou em equinos em número preocupante, é um facto de alguma maneira tranquilizador.

BIBLIOGRAFIA

1- Gould LH, Fikrig E. West Nile virus: a growing concern? J Clin Invest 2004;113: 1102-7.
2- ICTVdB - The Universal Virus Database, version 3. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/
3- Filipe AR. Flavivirus. In: Ferreira WFC, Sousa ICF, eds. Microbiologia. Lisboa: Lidel; 2002; p. 279-285.
4- Kramer LD, Bernard KA. West Nile virus in the western hemisphere. Curr Opin Infect Dis. 2001;14:519-25.
5- Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. Lancet Infect Dis 2002; 2:519-29.
6- Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever- a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. Emerg Infect Dis 1999;5:643-50.
7- Zeller HG, Schuffenecker I. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004;23:147-156.
8- Durand JP, Simon F, Tolou H. West Nile virus: in France again, in humans and horses. Rev Prat 2004;54:709-710.
9- Filipe AR. Anticorpos contra vírus transmitidos por artrópodos - arbovirus do grupo B - em animais do sul de Portugal. An Esc Nacl Saude Publica Med Trop (Lisb) 1967;1:197-204.
10- Filipe AR. Isolation in Portugal of West Nile virus from Anopheles maculipennis mosquitoes. Acta Virol 1972;16:361.
11- Filipe AR, Andrade HR. Arbovirus in the Iberian peninsula. Acta Virol 1990; 34:587-591.
12- Direcção Geral da Saúde. Medidas de Prevenção da Infecção por vírus do Nilo Ocidental. Nota informativa de 10-08-2004.
13- Petersen LR, Marfin AA, Gubler DJ. West Nile virus. JAMA 2003 ;290:524-8.
14- Direcção Geral da Saúde. Vigilância Epidemiológica da infecção por vírus do Nilo Ocidental. Circular Normativa 16/DT 2004:1-13.
15- Perra A, Zientra S, Murgue B, et al. La surveillance du virus West Nile en France 2001. BEH 2002;33:161-163.
16- Gea-Banacloche J, Johnson RT, Bagic A, et al. West Nile Virus: Pathogenesis and Therapeutic Options. Ann Intern Med 2004;140:545-553.
17- Peterson LR, Marfin AA. West Nile Virus: A Primer for the Clinician. Ann Intern Med 2002; 137:173-79.
18- Watson JT, Pertel PE, Jones AM, et al. Clinical Characteristics and Functional Outcomes of West Nile Fever. Ann Intern Med 2004; 141:360-365.
19- Tyler KL. West Nile virus infection in the Unites States. Arch Neurol 2004;61: 1190-1195.
20- Kapoor A H, Signs E K, Somsel A P, Downes A FP, Clark A PA, Massey A JP. Persistence of West Nile Virus (WNV) IgM antibodies in cerebrospinal fluid from patients with CNS disease. J Clin Virol. 2004; 31:289-291.
21- Haley M, Reller AS, Fowler D, et al. The Role for Intravenous Immunoglobulin in the Treatment of West Nile Virus Encephalitis. Clin Infect Dis 2003;37:e88-90.
22- Fradin MS. Mosquitoes and Mosquito Repellents: A Clinician's Guide. Ann Intern Med 1998; 128:931-40.
23- Fradin MS, Day JF. Comparative Efficacy of Insect Repellents Against Mosquito Bites. N Engl J Med 2002; 347:13-18.
24- American Academy of Pediatrics. Follow Safety Precautions When Using DEET on Children. Accessed November 24, 2004, at http://www.aap.org/family/wnv-jun03.htm
25- Granwehr BP, Lillibridge KM, Higgs S, et al. West Nile virus: where are we now? Lancet Infect Dis 2004; 4: 547-56.
26- Petersen LR, Hayes EB. Westward ho- the spread of West Nile Virus. N Engl J Med 2004; 351: 2257-59.