

# Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen  
*Volume* **49**

Número  
*Number* **4**

Octubre-Diciembre  
*October-December* **2002**

*Artículo:*

## Actualidades sobre la fiebre del Nilo Occidental

Derechos reservados, Copyright © 2002:  
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

### Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

### *Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**Medigraphic.com**

# Actualidades sobre la fiebre del Nilo Occidental

**Palabras clave:** Flavivirus, arbovirus, fiebre del Nilo Occidental, aves migratorias, mosquitos ornitofílicos.

**Key words:** Flavivirus, arbovirus, West Nile fever, migratory birds, ornithophilic mosquitoes.

Recibido: 20/09/2002

Aceptado: 07/10/2002

Gustavo Barriga Angulo,\* Carlos Arumir Escorza,\* Fabiola Mercado González\*

\* Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS.

Correspondencia :

Dr. Gustavo Barriga Angulo

Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS.

Círculo Interior S/N, Col. La Raza, 02090 México, D.F.

## Resumen

La fiebre del Nilo Occidental, desconocida en el Hemisferio Occidental hasta 1999, está alcanzando proporciones epidémicas en Estados Unidos de América y podría extenderse a todo el Continente Americano. Es causada por un virus ARN de la familia *Flaviviridae*. Primariamente es una infección de aves, pero mosquitos ornitofílicos infectados pueden transmitirla a humanos y animales. Su diseminación está siguiendo la de los patrones migratorios de aves y, hasta el momento (16 de septiembre de 2002), ha causado más de 1460 casos comprobados en humanos en la Unión Americana, afectando a más de 44 estados. Clínicamente es una infección severa con participación significativa del sistema nervioso central y elevada mortalidad y no se cuenta con un tratamiento específico adecuado. Su diagnóstico se logra a través del aislamiento y detección del virus o en la detección de la respuesta inmune que origina. Su prevención radica en medidas de protección personal, control de mosquitos, vigilancia y detección temprana de la infección en humanos, animales, aves y mosquitos.

## Introducción

Hace tres décadas las enfermedades infecciosas parecían estar en retroceso total, los avances en salud pública e ingeniería sanitaria, la disponibilidad y el empleo de gran variedad de

## Summary

West Nile virus, was first detected in the Western Hemisphere in September of 1999, now is reaching epidemical proportions in USA and teorically will be expand to all American Continent, the etiological agent a ARN Flavivirus primarily infects birds, but ornithophilic mosquitoes can transmit to humans and animals, 1460 confirmed cases has been reported in USA (septiembre 16 2002), affecting more than 44 states, the virus can cause inapparent infection, mild febrile illness, meningitis, encephalitis, or death in humans and horses. The laboratory diagnosis includes the detection and isolation of the virus by PCR methods and the detection of the antibody response. The preventive measures are: personal protection, mosquito control and a early surveillance system based on detection of infection in humans, animals, birds or mosquitoes.

203

medicamentos antimicrobianos, vacunas y pesticidas hicieron pensar prematuramente en su total erradicación o control. No se tomó en cuenta la extraordinaria capacidad de los microorganismos patogénicos de evolucionar, adaptarse y disseminarse de manera impredecible y dinámica.

La acelerada industrialización, la diseminación de las poblaciones humanas en las florestas tropicales, el hacinamiento de las grandes urbes, los cambios en el comportamiento sexual y los grandes cambios climáticos mundiales, han llevado a un grave deterioro ambiental y a la aparición de brotes epidémicos de infecciones emergentes en poblaciones susceptibles.<sup>1-4</sup>

La fiebre del Nilo Occidental desconocida en el Hemisferio Occidental hasta 1999, está alcanzando proporciones epidémicas en el Este y Sureste de Estados Unidos de América, y dadas las condiciones ecológicas y patrones migratorios de numerosas aves, este problema podría llegar a afectar a todo el Continente Americano en un lapso muy breve.

En esta revisión se analizan los aspectos clínicos, epidemiológicos, de diagnóstico por laboratorio, prevención y control de esta nueva enfermedad para el Continente Americano.<sup>5</sup>

## Etiología

204

El virus del Oeste del Nilo es un miembro del género *Flavivirus* (familia *Flaviviridae*), con una sola tira de ARN con sentido positivo y que mide de 45 a 50 nanómetros de diámetro con una envoltura derivada de las membranas de las células huésped, y una nucleocápside icosaédrica de 30–35 nanómetros compuesta de múltiples copias de una proteína de 12 kilodaltones. La glicoproteína E constituye la proteína estructural más importante ya que es la mediadora de la unión del virus a sus células huésped, tiene actividad de hemaglutinina y provoca la formación de anticuerpos neutralizantes (*figura 1*).

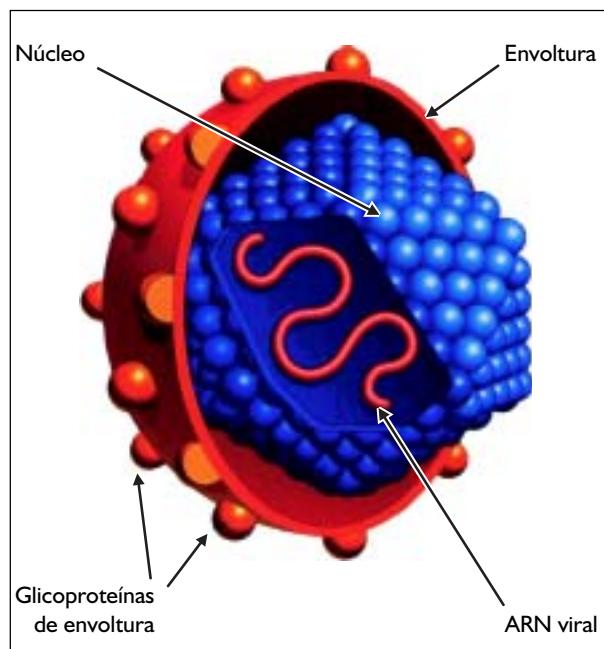
Su genoma de 12,000 nucléotidos codifica a siete proteínas no estructurales: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5, y a dos glicoproteínas estructurales: E de 53 kilodaltones y prM de 18–20 (*figura 2*)

El virus del Oeste del Nilo está cercanamente relacionado con todos los virus que forman

el complejo antigénico de la encefalitis japonesa como los virus: Alfuy, Cacipacore, Koutango, Kunin, Valle de Murray, Usutu, Yaounde y, sobre todo, con el de la encefalitis de San Luis. Genéticamente se le ha dividido en líneas, la de tipo I asociada a encefalitis clínica en humanos, y la de tipo II que se ha mantenido en focos en zoóticos en África y que no se asocia a encefalitis clínica en humanos.

## Epidemiología

El agente etiológico de la fiebre del Oeste del Nilo fue aislado por primera vez en una mujer con fiebre en el Distrito Oeste del Río Nilo en 1937 en lo que hoy se conoce como Uganda, de ahí su denominación.<sup>10</sup> En la década de los años 50, 40% de la población humana que habitaba el Delta del Río Nilo en Egipto era positiva serológicamente al virus.<sup>11</sup> A partir de esa década, se comienzan a observar brotes epidémicos de la infección en humanos en Israel (1950–1957) y en numerosos países africanos, del Mediterráneo y del Cercano



**Figura 1.** Virus del Oeste del Nilo.

Figura 2. Genoma del virus del Oeste del Nilo



Oriente.<sup>12</sup> En 1962 se reportan varios casos en el Sur de Francia.<sup>13</sup> En 1974, en la Provincia del Cabo en Sudáfrica, se presenta un brote con más de 3,000 casos.<sup>14</sup> En 1983 se reportan cuatro casos fatales de hepatitis por este virus en la República Centroafricana.<sup>15</sup>

En la década de los años 90 se observa un resurgimiento epidémico de esta infección con numerosos brotes en humanos; en 1993: Senegal,<sup>16</sup> 1996–1998: Bucarest,<sup>17-18</sup> 1996: República Checa,<sup>19</sup> 1997: Azerbayán,<sup>20</sup> 1998: Georgia,<sup>21-22</sup> Kenya<sup>23</sup> e Israel,<sup>24</sup> 1998: Volgogrado,<sup>25-26</sup> 1999–2000: Israel,<sup>27</sup> 1999: Nueva York.<sup>28-29</sup> El ciclo básico de transmisión del virus del Oeste del Nilo depende de mosquitos ornitofílicos y primariamente es una infección de aves; sin embargo, los

mosquitos infectados pueden transmitir el virus a humanos y animales (*figura 3*).<sup>30</sup> Se ha comprobado su transmisión por transfusión y por órganos transplantados, se estima el riesgo de contagio en dos casos por cada 10,000 transfusiones que se realicen.

Algunos de los aislamientos virales han mostrado un alto grado de similaridad genética: Israel: 1998–Nueva York: 1999; Rumania: 1996–Vologrado: 1999, (aislamiento en mosquitos); Senegal: 1993–Kenya: 1998; Rumania: 1996–Azerbaiyán: 1997, (aislamientos en humanos).

Los tres más grandes brotes registrados: Rumania: 1996, Volgogrado: 1999, Nueva York: 1999, fueron causados por cepas genéticamente similares, lo que muestra la amplia circulación y emer-

205

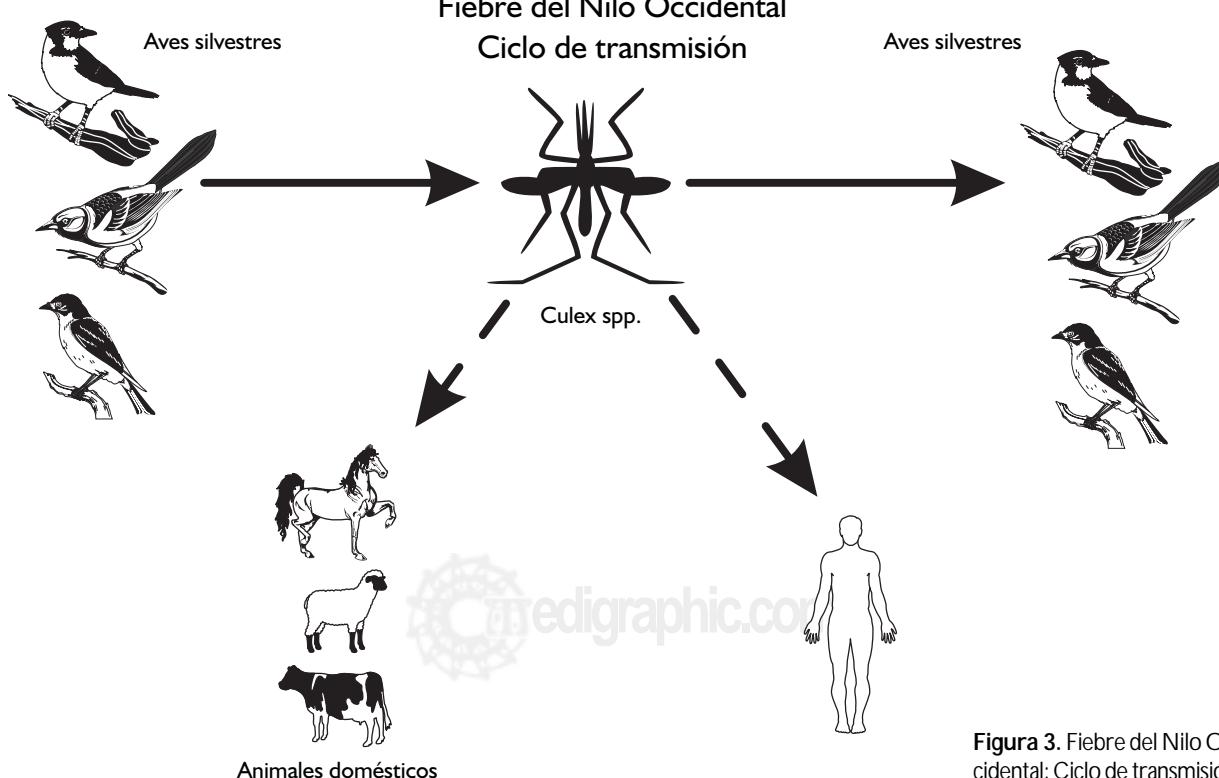


Figura 3. Fiebre del Nilo Occidental: Ciclo de transmisión.

gencia de cepas potencialmente epidémicas del virus. Estas tres ciudades están localizadas cerca de grandes cuerpos de agua y en el paso de rutas de aves migratorias; todas esas zonas tuvieron veranos inusualmente secos e inviernos muy cálidos durante los años de los brotes.

Algunas de las epidemias más recientes han tenido características diferentes a las anteriores, como elevada tasa de mortalidad, así como síntomas y alteraciones neurológicas.

La yuxtaposición espacial y temporal de infecciones en humanos y en aves ha llevado a concluir que las aves actúan como huéspedes introductarios infectando mosquitos ornitofílicos, que a su vez infectan a otros huéspedes y eventualmente a humanos. Los brotes suceden a finales del verano e inicio del otoño, coincidiendo con la llegada de grandes concentraciones de aves migratorias.

El primer caso conocido de infección con el virus del Oeste del Nilo en el Hemisferio Occidental fue reportado en agosto de 1999<sup>28</sup> en la ciudad de Nueva York; eventualmente se confirmaron 62 casos más hasta octubre, 70% de ellos ocurrió en un radio de 10 kilómetros, tomando como centro el extremo noreste de la ciudad. Coinciendo en tiempo y espacio con el brote, se observó una gran mortalidad de aves, particularmente de cuervos americanos, más acentuada alrededor del zoológico del Bronx; además de pájaros silvestres, murieron también aves de las colecciones de los zoológicos del Bronx y Queens, como flamingos, cormoranes, águilas, patos, faisanes y lechuzas.<sup>31</sup> Al igual que en los brotes europeos, se identifica al mosquito ornitofílico *Culex pipiens* como el principal vector. Existen evidencias de que el origen de la introducción de este virus al Hemisferio Occidental haya sido su dispersión intercontinental a través de aves migratorias.<sup>32</sup>

La diseminación de esta infección en el Continente Americano está siguiendo claramente la de los patrones migratorios de diversas aves, que pueden alcanzar cualquier parte del Suroeste de Estados uni-

dos, México, América Central, Islas del Caribe y Sudamérica siguiendo tres rutas principales:

### Sudeste

Miembros de 155 especies de aves pueden pasar a través u originarse de la ciudad de Nueva York en su camino hacia sus lugares de invernación en el Sureste de Estados Unidos siguiendo la ruta descrita por Cooke para el tordo americano; de ellas, 32 especies reúnen las condiciones adecuadas como vectores del virus (*figura 4*).

### Golfo

Más de 125 especies de aves procedentes de Estados Unidos invernan en México y América Central evitando cruzar grandes extensiones de agua, estas especies incluyen halcones, patos, gaviotas, etcétera. Algunos vuelan directamente a través del Golfo de México, otras lo hacen a través de la costa, 12 son portadoras del virus (*figura 5*).



**Figura 4.** Ruta migratoria del Sudeste.

## Noratlántica

Setenta especies de aves pasan a través de Nueva York, siguiendo una ruta elíptica, cruzando el Oeste del Atlántico Norte o del Mar Caribe, en ruta hacia las Islas del Caribe o a Sudamérica (*figura 6*).

Hasta el momento (16 de septiembre 2002) se habían registrado oficialmente 1460 casos comprobados en humanos de fiebre del Oeste del Nilo en Estados Unidos con 66 muertes, a partir del primer caso reportado en agosto de 1999 en la ciudad de Nueva York, afectando ya a 44 estados de la Unión Americana, con presencia cada vez mayor del virus en mosquitos, aves y caballos (*figura 7*), con mortalidad global de 4.7% y elevado índice de casos con manifestaciones neurológicas.

Fuera de Estados Unidos, en el Continente Americano se han reportado tres casos, uno en un canadiense que la adquirió en Nueva York y falleció de encefalitis (septiembre 5, 1999), un mexicano de Torreón, Coahuila, de 78 años que la adquirió en la ciudad de Houston y que falleció con un cu-



207

**Figura 6.** Ruta migratoria Noratlántica.



**Figura 5.** Ruta migratoria del Golfo.

dro neurológico (agosto 28, 2002) y un residente de las Islas Caimán que, al parecer, la adquirió en su lugar de origen, ya que no había realizado ningún viaje fuera de su residencia (*cuadro I*).<sup>35,36</sup>

## Manifestaciones clínicas y tratamiento

Clínicamente la fiebre del Oeste del Nilo es una infección severa con participación significativa del sistema nervioso central y elevada mortalidad; con período de incubación de tres a 14 días; 20% de los individuos infectados desarrolla un cuadro clínico moderado, y uno de cada 150 desarrolla enfermedad neurológi-

**Cuadro I.** Casos reportados de fiebre del Nilo en América (1999–2002).

Año	Número de casos	Mortalidad		Número de estados con casos (EUA)	Casos fuera de EUA
		n	%		
1999	62	7	11.2	4	1*
2000	21	2	9.5	15	—
2001	67	3	4.4	27	1*
2002 <sup>o</sup>	275	13	4.8	28	1***
Total	425	20	4.7	28	3

<sup>o</sup> Agosto 25.

\* Residente de Canadá (viajó a Nueva York).

\*\* Residente de Islas Caimán.

\*\*\* Residente de México (viajó a Houston).

ca severa. Las manifestaciones clínicas más comunes son: fiebre, cefalea, alteraciones de la conciencia, confusión, linfadenopatía, dolor abdominal, vómito y diarrea (*cuadro II*), así como elevada prevalencia de debilidad severa, convulsiones, rigidez de la nuca, parálisis de nervios craneales, anormalidades cerebelosas, fotofobia. Se ha descrito también la aparición de exantema maculopapular o morbiliforme en la nuca, tronco y extremidades; sin embargo, en los casos descritos en el Hemisferio Occidental ha tenido una frecuencia menor a la reportada previamente.<sup>37</sup>

En lo referente a las manifestaciones neurológicas, cuando éstas se presentan corresponden en su mayoría a encefalitis (62%) o meningitis (38%).

En algunos casos se observa parálisis flácida completa, por lo que se le confunde inicialmente con el síndrome de Guillain–Barré. Sin embargo, los estudios electromiográficos y de velocidad de conducción neuronal indican lesiones tanto axonales como desmielinizantes, predominando las primeras. Otras anormalidades neurológicas reportadas incluyen: ataxia, signos extrapiramidales de nervios craneales, mielitis, neuritis óptica, convulsiones mioclónicas y signos parecidos a Parkinson. Existe el reporte de cuatro casos fatales de hepatitis.<sup>15</sup>

208

**Cuadro II.** Manifestaciones clínicas en 233 pacientes.

	n	%
Fiebre > 38°C	229	98.3
Cefalea	135	57.9
Alteraciones de la conciencia	109	46.8
Confusión	92	39.5
Vómito	73	31.3
Rigidez de nuca	67	28.7
Exantema	51	21.8
Síntomas gastrointestinales	43	18.5
Coma	39	16.7
Mialgias	36	15.4
Signos neurológicos focales	22	9.4
Linfadenopatía	10	4.3

En los casos reportados en Estados Unidos, el promedio de edad ha sido de 60 años (rango 6 a 90 años); la mortalidad global ha sido de 4.7%, pero en las formas neurológicas hasta de 14%.

La edad avanzada es el factor primario de riesgo para desarrollar enfermedad neurológica severa y muerte.

Otros predictores de riesgo de muerte han sido: cambios en el nivel de conciencia, encefalitis con debilidad muscular severa, diabetes mellitus y supresión inmune.

En cuanto a la evolución en los pacientes que requirieron ser hospitalizados, la mitad no había recuperado, al momento de su alta, su nivel fun-

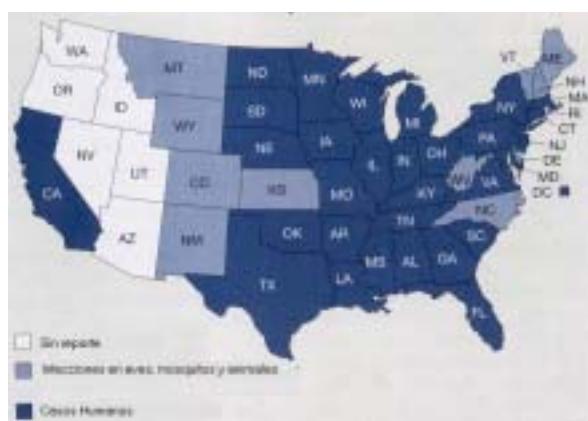


Figura 7.

cial normal previo y sólo un tercio se había recuperado después de un año, el resto continuaba con fatiga, pérdida de la memoria, dificultad para caminar, debilidad muscular, depresión y alteraciones electroencefalográficas.<sup>37-39</sup>

El tratamiento en su mayor parte es de sopor te, 25% de los casos requiere de cuidados intensivos y 10% de ventilación mecánica.

Se ha sugerido el empleo de ribavirina e interferón, aunque su actividad antiviral *in vitro* no ha sido satisfactoria.

La inmunoglobulina hiperímmune (títulos 1:6000) ha mostrado gran efectividad en el tratamiento de algunos pacientes.<sup>40</sup>

## Diagnóstico por laboratorio

Al considerar las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la infección con el virus de la fiebre del Oeste del Nilo se deberán hacer las siguientes observaciones:

- 1) Existen otros virus transmitidos por mosquitos que pueden causar síntomas similares como las encefalitis de California, la equina, la del Este, del Oeste y la de San Luis.
- 2) El virus del Oeste del Nilo, al pertenecer a la familia de los flavivirus, puede tener reacciones cruzadas con todos ellos, sobre todo el de la encefalitis de San Luis con el que está

cercanamente relacionado y tiene una distribución geográfica similar.

- 3) La vacunación contra la fiebre amarilla puede ocasionar reacciones serológicas falsas positivas.

Las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de esta infección son:

- Aislamiento y detección del virus.
- Reacción en cadena de la polimerasa RT-PCR.
- Pruebas inmunoenzimáticas para la detección de anticuerpos de especificidad IgM e IgG, y de抗ígenos.
- Pruebas inmunohistoquímicas para la demostración del virus en tejidos.
- Pruebas de neutralización en placa.

La prueba más utilizada, por su rapidez, sensibilidad y especificidad, para la detección del virus, tanto en humanos como en aves, animales y mosquitos, es la de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Las pruebas para la detección de anticuerpos (inmunoenzimáticas, hemaglutinación, etcétera) tienen la ventaja de la rapidez en su realización. La especificidad de las pruebas de tipo IgM permiten documentar la presencia de un cuadro agudo; sin embargo, dada la vida media de los anticuerpos de tipo IgM en suero de hasta 500 días después del cuadro agudo, invariablemente se deberá de contar con muestras, tanto de fase aguda como de convalecencia, que muestren cambios en los títulos de anticuerpos. En líquido cefalorraquídeo, la vida media de los anticuerpos de tipo IgM es más corta, 40–50 días, y al no pasar la barrera hematoencefálica, su presencia en líquido cefalorraquídeo es diagnóstica de neuroinfección por este virus. La presencia de reacciones cruzadas de anticuerpos entre los diferentes flavivirus, sobre todo con el de la encefalitis de San Luis, requiere, en caso de positividad, de realizar confirmación mediante pruebas de neutralización en placa.

La demostración de la presencia de抗ígenos virales, utilizando anticuerpos monoclonal-

les, permite realizar un diagnóstico temprano con muestras de suero, de líquido cefalorraquídeo o de tejidos.

La demostración en biopsias de tejidos del virus a través de técnicas inmunohistoquímicas ha sido de enorme utilidad tanto para el diagnóstico en humanos, como para caballos y aves.

Otros estudios de laboratorio, como la biometría hemática, muestran leucocitosis y linfocitosis, así como anemia. En líquido cefalorraquídeo, las proteínas se encuentran ligeramente elevadas y la glucosa baja.<sup>41-46</sup>

## Prevención

La prevención de la infección con el virus de la fiebre del Nilo Occidental radica en tres medidas principales:

- a) Protección personal.
- b) Control de mosquitos.
- c) Vigilancia y detección temprana de la infección en humanos, animales, aves y mosquitos.

**210**

### a) Protección personal:

Consiste principalmente en evitar salir a exteriores en horas vespertinas, utilizar ropa protectora y repelentes efectivos, en interiores utilizar mosquiteros efectivos.

### b) Control de mosquitos:

Radica en eliminar los hábitats de los transmisores, manteniendo albercas limpias y clorinadas, tinacos tapados, eliminando reservarios de agua acumulada, y el empleo de larvicidas e insecticidas efectivos, el principal transmisor en Norteamérica ha sido *Culex quinquefasciatus*.

### c) Vigilancia y detección temprana de la infección:

Ésta se establece con el empleo de aves cautivas como centinelas, sobre las cuales se conozca que sean

altamente susceptibles a la infección con mosquitos, pero resistentes a ella con objeto de dar tiempo para que desarrolle suficiente viremia detectable. Así como el reporte temprano de casos en caballos, la presencia de un número inusitado de aves muertas, sobre todo cuervos, y su envío para estudio, así como el atrapamiento y estudio de mosquitos vectores.<sup>47-49</sup>

## Agradecimientos:

A Blanca I. Gómez Páez, por su colaboración en la redacción del manuscrito.

## Referencias

1. Mc Neill WH. *Plagues and peoples*. Garden City, NY: Anchor Press, 1976.
2. Woese CR. Bacterial evolution. *Microbiol Rev* 1987; 51: 221-271.
3. Gore A. Infectious disease. A global health threat. *National Science and Technology Council Centers for Disease Control and Prevention*. Washington D.C. White House 1995.
4. Reiter P. Climate change and mosquito born disease. *Environ Health Perspect* 2001; 109: 141-161.
5. Peters LR, Roehring JT. West Nile Virus A reemerging global pathogen emerg. *Infect Dis* 2001; 7 (4): 611-614.
6. Gubler DJ, Roehring JT. *Togaviridae and Flaviviridae* In: Collier C, Balows A, Sussman M. Editors Topley and Wilson. *Microbiology and Microbial Infections*. London: Arnold Publishing, 1999; 579-600.
7. Roehring JT. *Arboviruses clinical virology manual*. 3rd. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999; 356-373.
8. Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. Flavivirus genome organization, expression and replication. *Annu Rev Microbiol* 1990; 44: 649-688.
9. Domle RG, Yeolekan LR. Strain analysis and epitope mapping of West Nile Virus. Using monoclonal antibodies. *Acta Virologica* 1998; 42: 389-395.
10. Smithburn KC, Hughes TP, Burke AN, Paul SA. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med* 1940; 20: 471-492.
11. Smithburn KC, Taylor RM, Riz KF, Kader A. Immunity to certain arthropod borne viruses among Indigenous residents of Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 1954; 3: 9-18.
12. Marberg R, Goldblum N, Sterk VV, Jasinska RN, Klimberg MP. The natural history of West Nile fever: clinical observations. During an epidemic in Israel. *Am J Hyg* 1956; 64: 259-269.
13. Hoffmann L, Mouchet J, Rageau J, Hannoun C, Joubert L, Oudar J. Epidemiologie du virus West Nile: Etude d'un foyer en Camargue II Esquisse du milieu physique, biologique et Humain. *Annales de l' Institut Pasteur* 1968; 114: 521-538.
14. McIntosh BM, Jupp DG, Dos Santos I, Meemeen GM. Epidemic of West Nile and Sindbis viruses in South Africa with *Culex univittatus* as vector. *South Afr J Sci* 1976; 72: 925-930.
15. Georges AJ, Lesbordes JL, Georges LM, Meunier DM, Gonzalez JP. Fatal hepatitis from West Nile Virus. *Ann Inst Pasteur Virol* 1987; 138: 237-244.

16. Zeller HG, Fontenille D, Traore LM, Thiogane Y, Digutte JP. Enzootic activity of Rift Valley fever virus in Senegal. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 265-272.
17. Cernescu C, Ruta SM, Tardei G, Grancea C, Motdoveanu L, Spulbar E. A high number of severe neurology clinical forms during an epidemic of West Nile virus infection. *Rom J Virol* 1997; 48: 13-25.
18. Tsai TF, Dupovici F, Cernescu C, Cambell GL, Nedelco N. West Nile encephalitis epidemic in South Eastern Romania. *Lancet* 1998; 352: 767-771.
19. Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever—A reemerging mosquito borne viral Disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 643-650.
20. Lvou DR, Klimenko SM, Gaidamovich SY. *Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: Meditsina, 1998; 1-333.
21. Lvou DR. *Arboviral zoonoses of Northern Eurasia. Handbook of zoonoses*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 1994; 237-260.
22. Lvou DR. West Nile fever survey. *Vaproso Viro*/2000; 45: 11-19.
23. Miller BR, Nasci RS, Godsey MS, Savage HM, Lutwana J, Lanciotti RS. First field evidence for natural Vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* Complex mosquitoes from Rift Valley Province, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62: 240-246.
24. Giladi M, Metzkor CE, Martin DD, Siegman IY, Korczyn AD, Rosso A. West Nile encephalitis in Israel 1999. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 659-661.
25. Lvou DK, Beryalov PG, Myasnenko AM, Suortsoba TM, Aristova VA, Butenko AM. *Atlas of natural foci of virus infection in the Russian Federations*. Federal Department of Medico-Biological and External Problems at Ministry of Public Health Moscow Di. Ivanovsky Institute of Virology. RAMI/1995; 1: 187.
26. Lvou DK, Butenko AM, Gromashevsky NL, Larichev V. Isolation of two strains of West Nile Virus During an Outbreak in Southern Russia 1999. *Emerg Infect Dis* 2000; 6 (4): 373-376.
27. Weinberger M, Pitlik SD, Gandacu D, Lang P, Nassar F, BenDavid D. West Nile Fever outbreak. Israel 2000. *Epidemiologic Aspects Emerg Infect Dis* 2001; 7: 686-691.
28. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of West Nile like viral encephalitis New York 1999. *Morb Mortal Wkly Rep* 1999; 48: 845-849.
29. Centers for Disease Control and Prevention Update: West Nile viral encephalitis New York 1999. *Morb Mortal Wkly Rep* 1999; 48: 944-946, 955.
30. Acha NP, Szykes B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Publicación Científica No. 354. Washington DC, EUA: Organización Panamericana de la Salud, 1977.
31. Steele KE, Linn MJ, Schoepp RJ, Kowar N, Geisbert TN, Manduca RM. Pathology of fatal West Nile Virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City New York. *Vet Pathol* 2000; 37: 208-224.
32. Malkinson M, Banet C, Weisman J, Pokamonski S, King R. West Nile Fever: Recent evidence for intercontinental Dispersion of the virus by migratory birds. *Proceedings of the II th International Congres of Virology* 1999; 56.
33. Palmer RS (ed). *Handbok of North American Birds*. New Haven, CT: Yale University Press 1976.
34. Rappole JH, Ramos MA. Factors affecting migratory Bird routes over the Gulf of México. *Bird Conservation International* 1994; 4: 131-142.
35. Rappole JH, Derrickson SA, Hubalek Z. Migratory birds and spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis* 2000; 6 (4): 319-328.
36. Centers for Disease Control and Prevention. Weekly Update: West Nile virus activity United States, August 21-25 2002. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51.
37. Weiss D, Carr D, Kellachar J, Tan C, Phillips M et al. Clinical findings of West Nile Virus Infections in Hospitalized patients New York and New Jersey 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 (4): 654-658.
38. Ceausu EM, Erscoiv S, Calistro P, Ispas D, Dorobato O, Homes M. Clinical manifestations in West Nile Virus Outbreak Rom. *J Virol* 1997; 48: 3-11.
39. Chowers MY, Lang R, Nassar F, BenDavid D, Giladi M et al. Clinical characteristics of the West Nile Fever Outbreak Israel 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 (4): 675-678.
40. Shimoni Z, Niver M, Pitlik D, Bulvik M. Treatment of West Nile Virus Encephalitis with Intravenous immunoglobulin. *Emerg Infect Dis* 2000; 1 (7): 759.
41. Martin DA, Muth DJ, Brown T, Johnson AJ, Karabatsos N, Roehring JT. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1823-1826.
42. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, Godsey MS, Mitchell CS, Savage HM. Rapid detection of West Nile Virus from human clinical specimens, field collected mosquitoes and avian samples By a taq man reverse transcriptase PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4066-4071.
43. Wun JS, Guarner J, Layton N, Kine D, Miller J et al. The Role of Pathology in an investigation of an outbreak of West Nile encephalitis in New York. *Emerg Infect Dis* 2000; 6 (4): 370-372.
44. Shi PY, Kauffman EB, Ren P, Felten A, Tai JH, Dupuis API. High throughput detection of West Nile virus RNA. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1264-1271.
45. Beaty BJ, Calisher CH, Skope RS. Arboviruses Schmidt NJ, Emmons RW. *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and Chlamydial infections*. Washington DC: American Public Health Ass, 1989; 797-856.
46. Tardei G, Ruta S, Chito 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: 2232-2239.
47. Andreadis TG, Anderson JF, Vossbrinck ChR. Mosquito Surveillance for West Nile Virus in Connecticut, 2000: Isolation from *Culex pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx salivarius*, and *Culiseta melanosa*. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 (4): 670-674.
48. Langevin SA, Bunning N, Davis B, Komar N. Experimental Infection of Chickens as Candidate Sentinels for West Nile Virus. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 (4): 726-729.
49. Komar N, Lanciotti R, Bower R, Langevin S, Bunning M. Detection of West Nile Virus in Oral and Cloacal Swabs Collected from Bird Carcasse. *Emerg Infect Dis* 2002; 8 (7): 741-745.