

Aspectos epidemiológicos da Febre do Oeste do Nilo

Epidemiological aspects of West Nile Fever

Resumo

Desde sua introdução na América do Norte em 1999, mais de 27.500 casos humanos da infecção por West Nile virus (WNV) foram reportados nos Estados Unidos da América (EUA), resultando em mais de 1000 casos fatais. Recentemente, a disseminação do vírus para o hemisfério sul foi confirmada com a detecção de animais infectados pelo WNV em território sul-americano. A soropositividade para WNV em eqüídeos na Colômbia e Venezuela e o isolamento do vírus nestes animais na Argentina, reiteram a necessidade da manutenção do sistema de vigilância enzoótica para WNV em território brasileiro. Aspectos pertinentes à infecção, patogenia e epidemiologia do WNV são discutidos neste artigo.

Palavras-chave: West Nile vírus. Epidemia; Américas.

Alex Pauvalid-Corrêa¹

Rafael Brandão Varella²

¹ Mestrando do Curso de Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

² Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

Correspondência: **Rafael Brandão Varella**. Laboratório de Infectologia e Parasitologia Molecular (LIPAM) - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. Av. Brigadier Trompowsky s/n - Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ. E-mail: rafael_varella@hotmail.com

Abstract

Since the West Nile virus (WNV) was introduced in North America in 1999, more than 27,500 cases were reported among humans in the US, resulting in more than 1,000 casualties. Recently, the dissemination of the WNV to the Southern Hemisphere was confirmed through the detection of seropositive animals. Positively-infected horses for WNV in Colombia, Venezuela and viral isolation in Argentina uphold the need to maintain the enzootic surveillance system in the Brazilian territory. Aspects related to infection, diagnosis and epidemiology of WNV are discussed in this article.

Keywords: West Nile virus. Epidemic. Americas.

Introdução

Em 1942 a expressão *arthropod-borne virus* foi introduzida para descrição do grupo de vírus animais que se propagam em artrópodes e são transmitidos biologicamente a hospedeiros vertebrados. Duas décadas depois, o Sub-Comitê Internacional para Nomenclatura Viral recomendou a adoção oficial do termo *arbovirus* (arbovírus) para designação dos vírus que são mantidos na natureza em ciclos envolvendo vetores artrópodes hematófagos e hospedeiros vertebrados. Os arbovírus estão taxonomicamente classificados em diversas famílias virais como *Orthomyxoviridae*, *Reoviridae*, *Flaviviridae*, *Togaviridae* e *Bunyaviridae*¹. À exceção do *African Swine Fever virus* (ASFV), a ausência de arbovírus compostos por ácido desoxirribonucléico (DNA) sugere que a grande plasticidade genética e altas taxas de mutação dos vírus compostos por ácido ribonucléico (RNA) permitiram a este grupo, a capacidade de propagação em hospedeiros vertebrados e invertebrados². De aproximadamente 500 vírus registrados no Catálogo Internacional de Arbovírus e outros Vírus de Vertebrados, cerca de 100 espécies de arbovírus são conhecidas por infectarem humanos e 40 por infectarem animais domésticos³. Entretanto, muitas arboviroses caracterizadas por síndromes sistêmicas inespecíficas ou pela baixa incidência, freqüentemente permanecem sem identificação mesmo em países com maior apoio laboratorial para os diagnósticos, o que causa uma sub-notificação dos casos⁴. Dos arbovírus conhecidos que infectam o homem, aproximadamente 40 espécies estão envolvidas em quadros de febre, encefalite, artralgia, mialgia, exantema ou febre hemorrágica no continente americano^{5,6}. Algumas destas espécies, como *St Louis encephalitis virus* (SLEV), *California encephalitis virus* (CEV), *Eastern equine encephalitis virus* (EEEV) e *Western equine encephalitis virus* (WEEV) são consideradas importantes agentes etiológicos de desordens neurológicas humana e, à exceção de SLEV, também eqüina^{7,8}. No final da década de 1990, o fla-

vivirídeo *West Nile virus* (WNV), até então não detectado no ocidente, foi apontado como o agente causador de encefalite humana e animal, principalmente em eqüinos na América do Norte^{9,10}. Apesar de recente a detecção de casos autóctones no Novo Mundo, relatos de infecções mórbidas ou não, atribuídas ao WNV na África¹¹, Europa¹² e Ásia¹³, ocorrem desde 1940, quando um então vírus neurotrópico desconhecido foi isolado de uma mulher no distrito de West Nile, uma província no nordeste de Uganda¹⁴. Recente pesquisa paleopatológica sugere que a infecção humana pelo WNV possa ser ainda mais antiga, de acordo com o estudo de descrições históricas, a encefalite por WNV pode ter sido a causa mortis do rei da Macedônia, Alexandre “o grande”, em 323 a.C.¹⁵.

Propriedades biológicas do WNV

A família *Flaviviridae* é taxonomicamente composta pelos gêneros *Flavivirus*, *Hepacivirus* e *Pestivirus* e está representada por partículas esféricas envelopadas de 40 a 60 nm de diâmetro, com genoma RNA fita simples de polaridade positiva¹⁶. De acordo com 8º Relatório do Comitê Internacional em Taxonomia Viral (ICTV), referência padrão e definitiva para a taxonomia viral¹⁷, ao gênero *Flavivirus* estão classificadas aproximadamente 50 espécies de vírus de difícil identificação morfológica e taxonomicamente divididas em 10 grupos antígenicamente relacionados, estando entre eles o grupo do *Dengue virus* (DENV), grupo do *Mammalian Tick-borne virus* (TBEV), grupo do *Aroa virus* (AROAV) e grupo do *Japanese encephalitis virus* (JEV), este último formado entre outros, por SLEV e WNV^{17,18}. O conhecimento atual da ecologia do WNV sugere sua manutenção ambiental em ciclos enzoóticos envolvendo primariamente aves e mosquitos, e eventual envolvimento de mamíferos neste ciclo, produzindo hospedeiros terminais em ciclos abortivos^{19,20}. Além das aves, alguns estudos demonstraram que determinadas espécies de répteis jovens podem desempenhar relevante

papel na transmissão viral em áreas de alta densidade populacional destes animais²¹. Na natureza, a capacidade de perpetuação do vírus em condições climáticas adversas é atribuída à transmissão viral vertical e à sua capacidade de manutenção durante a diapausa do vetor²².

Patogenia e sintomas da infecção pelo WNV

O exato mecanismo e locais da replicação de WNV após a picada do mosquito infectado ainda permanecem desconhecidos. Entretanto, acredita-se que a replicação inicial ocorra na pele e em linfonodos regionais gerando uma viremia primária no sistema reticuloendotelial²³. Dependendo da viremia secundária resultante da replicação viral no reticuloendotelial, os virions podem acometer o sistema nervoso central causando desordens neurológicas em virtude da proliferação viral em neurônios e células da glia, citotoxicidade do sistema imune em resposta às células infectadas, inflamação perivascular difusa e formação de nódulo microglial²⁴. Em virtude do neurotropismo viral, o acometimento do sistema nervoso central por WNV tem sido alvo de diversos estudos, entretanto, apesar da reconhecida afecção de outros sistemas do organismo, estudos da patogênese viral em outros órgãos têm sido menos reportados. A patologia viral em hospedeiros vertebrados tem demonstrado que o tecido renal é um dos sítios replicativos de WNV. Roedores adultos experimentalmente infectados por WNV desenvolveram persistente virúria com excreção de virions viáveis por mais de 50 dias^{25,26}. A presença de ácido ribonucléico viral já foi detectada em amostra de urina humana de um caso de infecção sintomática nos EUA, 08 dias após o fim das manifestações clínicas²⁶. Além do sistema urinário, relatos de infecção sintomática por WNV com acometimento do sistema digestório e manifestações hemorrágicas também vêm sendo reportados^{27,28}.

Apesar da principal forma de infecção por WNV em seres humanos ocorrer através

da hematofagia de culicídeos infectados, a transmissão viral entre os hospedeiros vertebrados, sem o envolvimento de artrópodes, também vem sendo descrita por via oral^{25,29}, transfusão de sangue^{30,31}, transplante de órgãos³², amamentação³³ e, embora menos comum, a transmissão intra-uterina³⁴. Estima-se que 70% dos casos de infecção humana por WNV não apresentam sintomas³¹ e, quando sintomática, a infecção se caracteriza pelo início súbito de um quadro clínico inespecífico, normalmente envolvendo febre, astenia, cefaléia, artralgia e mialgia⁹. Alguns casos de surdez bilateral e complicações oculares também foram atribuídos à infecção por WNV³⁵. Apesar de relatos de acometimento do sistema nervoso central em apenas 0,5% dos casos sintomáticos³², recentes epidemias ocorridas a partir de 1996 na Romênia, EUA e Israel apresentaram predomínio de manifestações neurológicas, com ocorrência de meningite em 16% a 40% dos pacientes hospitalizados³⁶. Desde sua introdução na América do Norte em 1999, foram reportados nos EUA mais de 27.500 casos humanos de infecção por WNV sendo mais de 1.000 fatais. A epidemiologia da doença naquele país revela que até o momento, aproximadamente 41% dos casos apresentam doença neuroinvasiva, forma mais severa da infecção, manifestada principalmente por meningite e encefalite, 57% desenvolvem a Febre do Nilo, forma mais branda da doença sem acometimento neurológico, e que 2% dos casos se manifestam através de sintomas inespecíficos como a paralisia flácida aguda³¹. Em um trabalho realizado nos EUA, verificou-se que a manifestação de paralisia flácida aguda, não está associada à idade avançada do paciente³⁷. Apesar de os *Enterovirus* constituírem os principais agentes etiológicos identificados em meningite asséptica³⁶, elevado número de casos de meningite viral sem etiologia definida é comumente reportado. Em alguns Estados dos EUA, a pesquisa sorológica para WNV foi instituída como conduta clínica prioritária em casos de meningite asséptica idiopática, em decorrência da inespecificidade das ma-

nifestações clínicas dos casos de meningite por WNV, associada à necessidade de uma rápida detecção da circulação ambiental deste vírus⁷⁶.

Epidemiologia da infecção pelo WNV

À semelhança da epidemia brasileira por *Ilheus virus* (ILHV) e Rocio virus (ROCV) ocorrida no sul do estado de São Paulo durante a década de 70³⁸, um maior número de casos de infecção humana sintomática por WNV é registrado do início da primavera até outono, período considerado de maior emergência de culicídeos adultos³⁹. Sugere-se que a re-emergência sazonal do vírus no ciclo enzoótico de transmissão na primavera em clima temperado, esteja envolvida com o “*overwintering*”, que consiste na permanência de partículas virais infectantes nos mosquitos vetores, como o *Culex pipiens* Linnaeus, 1758, durante todo o inverno⁴⁰. Outra característica que pode estar envolvida com o aumento da viabilidade viral na natureza é que, assim como o DENV, o WNV também é transmitido verticalmente em culicídeos. Credita-se a esse mecanismo de transmissão vertical a manutenção de WNV em New York em 1999⁴¹. A experiência norte americana e estudos realizados na Europa evidenciaram que uma vez introduzido em determinada área, o WNV torna-se enzoótico⁴². Contudo existem relatos de áreas de ocorrência de WNV que não se tornaram enzoóticas, no sudeste da França em 2000, mesmo após epizootia em equinos com 76 casos clínicos, a doença não se estabilizou na região⁴³.

Entre os animais, infecções mórbidas ou não vêm sendo comumente relatadas em aves, répteis e mamíferos^{36,44,45}. Atualmente entende-se que as aves migratórias representam importante papel no ciclo natural de transmissão do WNV, atribuindo-se a elas o papel de principal disseminador e amplificador do vírus⁴⁶. Um dos modelos de migração de aves da espécie *Sterna hirundo* Linnaeus, 1758, popularmente conhecida como andorinha-do-mar comum, compreende em sua rota o deslocamento

de populações do estado de New York nos EUA para o Caribe e América do Sul⁴⁷. Apesar da relevância das espécies migratórias, alguns inquéritos sorológicos têm demonstrado maior soropositividade em espécies residentes. Na Jamaica em 2002, em estudo realizado em 542 espécimes de aves, a soropositividade para WNV foi detectada em 11 espécies de aves residentes e em nenhuma espécie migratória⁴⁸. Em Cuba no ano seguinte, embora tenha sido identificada soropositividade para WNV em cavalos e seres humanos, a presença de virions em amostra de tecidos coletados em aves encontradas mortas não foi detectada, sugerindo que estes animais provavelmente não foram os responsáveis pela entrada do vírus no país⁴⁹. As epizootias por WNV em aves têm sido descritas principalmente em membros da família Corvidae³⁶. Em New York em 1999, dos 295 espécimes de aves mortas que tiveram confirmação laboratorial de infecção por WNV, 89% pertenciam à espécie de corvídeo *Corvus brachyrhynchos* Brehm, 1822, popularmente conhecida como corvo americano⁵⁰. Além dos corvídeos, relatos de infecção letal por WNV foram reportados em mais de 200 espécies taxonomicamente identificadas com diferentes famílias de aves⁴². Além da hematofagia por artrópodes infectados, alguns relatos remetem a infecção por WNV em algumas espécies de aves insetívoras e carniceiras, através da ingestão de carcaça ou de mosquitos infectados⁴¹. Quando não fatal, a doença causada pelo WNV em aves apresenta predomínio de acometimento neurológico. Em necropsia de aves infectadas por WNV foram identificadas lesões em tecido pancreático, cardíaco, encefálico e ósseo. Embora os gansos apresentem alta susceptibilidade ao vírus, galinhas e perus são refratários à doença, tendo sido as galinhas utilizadas para monitorar a atividade viral⁴². O acompanhamento da mortalidade de aves silvestres tem se mostrado como o mais sensível método de vigilância na detecção da introdução do vírus ao longo do território dos EUA^{50,51}. Em mamíferos, as epizootias causadas pelo WNV têm se

mostrado mais graves em eqüinos, com muitos casos clínicos e às vezes com índices de mortalidade acima de 35%⁴⁵. No Estado de New York nos EUA, mais de 20 mil casos de encefalomielite por WNV em eqüinos já foram relatados⁵¹. Embora o WNV seja altamente infeccioso em cavalos de todas as raças e idades indistintamente, normalmente o vírus apresenta baixa virulência nestes animais. Assim como no homem, apenas um pequeno percentual de eqüinos infectados apresenta sintomas⁴². Os cavalos sintomáticos podem apresentar de moderada a grave ataxia, fasciculações musculares e deficiência funcional de nervos cranianos. A febre, contudo, não é um sinal comum da doença nestes animais⁵². Os cavalos são considerados bons sentinelas para vigilância de WNV por várias razões, entre elas a fácil identificação dos animais infectados e doentes e a facilidade de coleta dos espécimes biológicos nestes animais¹⁹. Apesar do elevado número de casos em eqüinos, a Febre do Oeste do Nilo nestes animais é uma doença imunoprevenível nos EUA desde 2002, quando foi licenciada pelo departamento de agricultura daquele país, uma vacina inativada para eqüinos⁵³. Apesar de casos de infecção sintomática por WNV em cães⁵⁴, estes hospedeiros não são considerados amplificadores do vírus; entretanto, picos virêmicos detectados em gatos domésticos, experimentalmente infectados por via oral e parenteral, sugerem que estes animais possam manter viremia suficiente para a infecção de artrópodes em hematofagia, ainda que com baixa eficiência em relação a algumas espécies de aves²⁹. Além dos felinos, evidências recentes sugerem que indivíduos jovens de *Alligator mississippiensis* Daudin, 1802, popularmente conhecido como jacaré americano, são capazes de transmitir WNV a outros jacarés. Esses animais, experimentalmente submetidos ao contato com virions por via enteral e parenteral, além de se infectarem, sustentaram uma viremia considerada infecciosa para o mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. O perfil virêmico e as múltiplas rotas de infecção sugerem que os jacarés jovens

podem desempenhar relevante papel na transmissão de WNV em áreas de alta densidade populacional destes animais²¹.

Com relação aos hospedeiros invertebrados, responsáveis pela principal forma de transmissão do vírus entre os vertebrados susceptíveis através da hematofagia, virions identificados como WNV já foram isolados em espécies de culicídeos e também em algumas espécies de ixodídeos e argasídeos⁵⁵. Espécimes identificados com a espécie de Argasidae *Ornithodoros moubata* Murray, 1877, experimentalmente infectados, foram capazes de manter transestadialmente a infecção por WNV, conseguindo veicular virions, embora em baixos níveis, em modelo roedor⁵⁵. Entretanto, os vetores de maior relevância no ciclo de transmissão de WNV são culicídeos identificados ao gênero *Culex* Linnaeus, 1758⁵⁶. Durante a epizootia e epidemia de encefalite por WNV ocorrida nas cidades de New York e New Jersey nos EUA em 1999, a pesquisa viral em mais de 1850 grupos específicos de mais de 32.000 culicídeos capturados, detectou através de isolamento viral a presença de virions identificados como WNV em 15 grupos, todos relacionados ao gênero *Culex*⁴⁰. No ano seguinte, a análise de mais de 300.000 culicídeos divididos por espécie em aproximadamente 10.000 grupos, detectou a presença de ácido nucléico viral através da Reação em Cadeia da Polimerase utilizando-se a Transcriptase Reversa (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* ou RT-PCR) em 363 grupos identificados com os gêneros *Psorophora*, *Anopheles*, *Aedes*, *Ochlerotatus* e *Culex*. Entretanto, dos 5.836 grupos identificados com o gênero *Culex* e submetidos à PCR, a presença de ácido nucléico viral foi detectada em 341, o que equivale aproximadamente a 5,8% de positividade entre os grupos de *Culex*, enquanto dos 2.345 grupos identificados aos outros gêneros, a positividade foi detectada em apenas 22, correspondendo a aproximadamente 0,9% dos grupos identificados aos outros gêneros⁵⁷. Entre as espécies de *Culex* mais comumente identificadas em presença de WNV, estão *Culex pipiens* Linnaeus, 1758, *Culex restuans* Theobald, 1901 e *Culex salinarius* Coquillett, 1904^{40,57}.

Diagnóstico laboratorial do WNV

A identificação viral nos principais hospedeiros invertebrados, principalmente mosquitos, pode ser feita através do protocolo já utilizado na identificação de outros vírus como, por exemplo, o vírus da EEEV, através da RT-PCR em grupos de mosquitos. Esta análise molecular é capaz de detectar o RNA viral de um único mosquito infectado presente em um grupo de dezenas de espécimes^{58,59}. O diagnóstico de encefalomielite por WNV em vertebrados normalmente é baseado em sinais clínicos e sorologia, principalmente por Teste de Neutralização por Redução de Placas (*Plaque Reduction Neutralization Test* ou PRNT) ou Ensaio Imunoabsorvente de Ligação de Enzimas por Captura de IgM (*IgM Antibody Capture Enzyme Linked Immuno Sorent Assay* ou MAC ELISA)⁶⁰. Embora apenas em raras circunstâncias anticorpos heterófilos possam causar um falso positivo em testes sorológicos⁶¹, na pesquisa por WNV nas Américas o PRNT também deve ser feito para outras arboviroses como, por exemplo, o SLEV, uma vez que esta espécie viral apresenta ciclo enzoótico no continente americano⁶². Outras técnicas sorológicas empregadas no diagnóstico do WNV, tais como *Epitope-blocking* ELISA⁶² e ensaio de Imunofluorescência Indireta (*Indirect Immunofluorescence Test* ou FFA) tem demonstrado bons resultados⁶³. A abordagem molecular como meio de diagnóstico para Febre do Oeste do Nilo, é utilizada principalmente através de RT-PCR, mas ainda apresenta utilidade limitada devido a baixa e transitória viremia em hospedeiros vertebrados⁶⁰. Em recente estudo realizado com cavalos clinicamente doentes por encefalite por WNV, apenas 8% apresentaram RNA do WNV no sangue periférico⁶⁴.

Situação da América Latina e Brasil

A respeito da circulação viral na América Latina, embora existam relatos de equínos soropositivos em países como México, Cuba, Guatemala, El Salvador, Guadalupe e Jamaica^{25,48,62}, a circulação viral na América do Sul ainda não havia sido descrita até

2005, quando então reportou-se soropositividade em 9% dos eqüídeos colombianos avaliados⁶⁵. No ano seguinte, partículas virais identificadas como WNV foram isoladas de eqüinos sintomáticos na Argentina⁶⁶, corroborando a circulação viral no continente sul-americano⁶⁷. Em 2007, a detecção de soropositividade para WNV em aves e eqüinos residentes na Venezuela, instila o estabelecimento do vírus na América do Sul⁶⁸. O conjunto de determinados fatores como a presença de aves migratórias, alta densidade populacional eqüina e condições ambientais e climáticas favoráveis à proliferação dos artrópodes, podem resultar em epidemias de encefalomielite por WNV. Focos de infecção por WNV têm ocorrido principalmente em ecossistemas úmidos, como deltas de rios e planícies inundáveis⁵¹. Em um trabalho realizado nos EUA foi evidenciada uma forte associação entre altas temperaturas e atividades rurais e a infecção por WNV⁶⁹.

O território brasileiro apresenta algumas características geográficas que delimitam sua susceptibilidade a futura circulação de WNV em seu território. Com dimensões continentais, o país apresenta mais de 4700 km de fronteiras com a Colômbia, Venezuela e Argentina⁷⁰, países de reconhecida circulação viral, o que dificulta um eficiente monitoramento sanitário em toda a área limítrofe. Associado a isso, embora o clima brasileiro esteja classificado por zonas em clima equatorial, tropical e temperado, a predominância de clima tropical e equatorial, confere ao país áreas de elevada umidade e médias térmicas que em determinadas regiões ultrapassam 18°C em todos os meses do ano⁷¹. Regiões como a Amazônia e o Pantanal brasileiro, que apresentam estas condições ecológicas, ocupam grande área do território nacional e configuram ambientes propícios a circulação de arbovírus⁷². Algumas características

destas regiões as tornam mais vulneráveis à eventual circulação enzoótica de WNV, estando entre elas a elevada densidade populacional de artrópodes como eventuais hospedeiros invertebrados, grande diversidade específica de aves residentes ou de hábitos migratórios⁷³, como eventuais hospedeiros vertebrados amplificadores e uma secular eqüinocultura extensiva, atribuindo aos cavalos intimamente integrados ao ambiente, o papel de eventuais hospedeiros vertebrados susceptíveis⁷². Em outubro de 2002, o primeiro inquérito sorológico realizado no Parque Nacional da Lagoa dos Peixes, localizado entre os municípios gaúchos de Mostardas, Tavares e São José do Norte, avaliou uma amostra de 522 espécimes de aves identificadas a 19 espécies⁷⁴. Em abril do ano seguinte, em outro inquérito sorológico, desta vez realizado no município de Galinhos, no estado do Rio Grande do Norte, foram avaliados mais de 700 espécimes de aves identificadas em 23 espécies, sendo 17 migrantes⁷⁵. Em novembro de 2003, em virtude da relevância epidemiológica do Parque Nacional da Lagoa dos Peixes, considerado uma das mais importantes áreas de pouso e invernada de aves migratórias no país, um segundo inquérito sorológico foi realizado em amostra composta por 172 espécimes de aves identificadas em 19 espécies⁷⁵. Até o momento, a presença ou vestígios da circulação de WNV, não foram detectados em mais de 1.300 espécimes biológicos de aves analisadas em território brasileiro. Entretanto, a confirmação da entrada do vírus em território sul-americano associado às características ecológicas e econômicas das fronteiras brasileiras serve como alerta, e reiteram a necessidade da manutenção permanente do sistema de vigilância para a circulação deste arbovírus em território nacional.

Referências

1. Organização Mundial de Saúde (OMS). Virosis transmitidas por artrópodos y roedores. *Informes técnicos* 1985; 719: 126.
2. Weaver SC. Evolutionary influences in arboviral disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006; 299: 285-314.

3. Karabastos N. *International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates*. 3 ed. San Antonio: American Society of Tropical Medicine & Hygiene; 1985.
4. Brés P. Impact of arboviruses on human and animal health. In: Monath TP. *The Arboviruses: Epidemiology and ecology*. Vol 1. Florida: CRC Press Inc 1988. p. 1-18.
5. Causey CE, Causey OR. The arthropod-borne viruses of Brazil in relation to world group. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública* 1962; 12(1): 9-13. In: *Memórias do Instituto Evandro Chagas*. Série: Produção Científica, Vol 7. Belém: Gráfica Rápida Ltda 2002. p. 89-93.
6. Beaty BJ, Calisher CH, Shope RE. Arboviruses. In: Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET. *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infectious*. 7 ed. Washington DC: American Public Health Association 1995. p. 19-212.
7. Burke DS, Monath TP. Flaviviruses In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE. *Fields virology*. Vol 1-2. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001. p.1043-125.
8. Vasconcelos PFC, Travassos DA, Rosa APA, Rodrigues SG. Gestão imprópria do ecossistema natural na Amazônia brasileira resulta na emergência e reemergência de arbovírus. *Cad Saúde Pública* 2001; 17: 155-64.
9. 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. *New England Journal Medicine* 2001; 344 (24): 1807-14.
10. Ostlund EN, Crom RL, Pedersen DD, Johnson DJ, Williams WO, Schmitt BJ. Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2001; 7(4): 665-9.
11. Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Rizk F. A study of the ecology of *West Nile virus* in Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 1956; 5(4): 579-620.
12. Filipe AR, Pinto MR. Survey for antibodies to arboviruses in serum of animals from southern Portugal. *Am J Trop Med Hyg* 1969; 18(3): 423-6.
13. Bernkopf H, Levine S, Nerson R. Isolation of *West Nile virus* in Israel. *J Infect Dis* 1953; 93(3): 207-18.
14. Smithburn JS, 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.
15. Marr JS, Calisher CH. Alexander the great and West Nile Virus encephalitis. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(12): 1599-603.
16. Ackermann H, Bertheaume L. *Atlas of virus diagrams*. Florida; 1995. CRC Press; 1995.
17. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. *Virus Taxonomy: The eighth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Elsevier/Academic Press 2005. p. 1259.
18. Schatzmayr HC, Barth OM. Características gerais dos vírus patrogênicos para o homem. In: Coura JC. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. Vol 2. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2005. p. 1645-60.
19. Dauphin G, Zientara S, Zeller H, Murgue B. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 2004; 27: 343-55.
20. Ben-Nathan D, Porgador A, Yavelsky V, Rager-Zisman B. Models of West Nile virus disease. *Drug Discovery Today: Disease Models, Infectious diseases* 2006; 3(1): 49-54.
21. Klenk K, Snow J, Morgan K, Bowen R, Stephens M, Foster F et al. Alligators as West Nile Virus amplifiers. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2004; 10(12): 2150-5.
22. Kramer LD, Li J, Shi P. West Nile virus. *Lancet Neurol* 2007; 6: 171-81.
23. Deubel V, Fiette L, Gounon P, Drouet MT, Khun H, Huerre M. Variations in biological features of West Nile viruses. *Ann NY Acad Sci* 2001; 951: 195-206.
24. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. *West Nile virus*. *Lancet Infectious Disease* 2002; 2: 519-29.
25. Komar N, Panella NA, Burns JE, Duszka SW, Mascarenhas TM, Talbot TO. Serologic evidence for *West Nile virus* infection in birds in the New York City vicinity during an outbreak in 1999. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(4): 621-5.
26. Tonry JH, Brown CB, Cropp CB, Co JKG, Bennett SN, Nerurkar VR et al. *West Nile virus* detection in urine. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(8): 1294-6.
27. Geogres AJ, Lesbordes JL, Georges-Coubort MC, Eunnier DMY, Gonzales JP. Fatal hepatitis from *West Nile virus*. *Ann Inst Pasteur Virol* 1987; 138: 237-44.
28. Paddock CD, Nicholson WL, Bhatnagar J, Goldsmith CS, Greer PW, Hayes EB et al. Fatal hemorrhagic fever caused by *West Nile virus* in the United States. *Clin Infect Dis* 2006; 42(11): 1527-35.
29. Austgen LE, Bowen RA, Bunning ML, Davis BS, Mitchell CJ, Chang GJ. Experimental infection of cats and dogs with West Nile Virus. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2004; 10(1): 82-6.
30. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Investigations of *West Nile virus* infections in recipients of blood transfusions. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51(43): 973-4.
31. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). / *West Nile virus*/: statistics, surveillance, and control. Division of vector-borne infectious diseases. 2008. Disponível em: <http://www.cdc.gov>. Acessado em agosto de 2007.
32. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). West Nile Virus infections in organ transplant recipients, New York and Pennsylvania, August/September 2005. *Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 54(40): 1021-3.

33. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Possible *West Nile virus* transmission to an infant through breast-feeding in Michigan. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51(39): 877-8.
34. Paisley JE, Hinckley AF, O'Leary DR, Kramer WC, Lanciotti RS, Campbell GL et al. West Nile Virus infection among pregnant women in a northern Colorado community, 2003 to 2004. *Pediatrics* 2006; 117: 814-20.
35. McBride W, Gill KRS, Wiviott L. West Nile Virus infection with hearing loss. *Journal of Infect* 2006; 53(5): 203-5.
36. Da Silva EE, Azevedo JPR, Costa EV. Enterovirose de importância médica. In: Coura JC. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. v 2. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2005. pp 1681-1700.
37. Bhangoo S, Chua R, Hammonnd C, Kimmel Z, Semenov I, Videnovic A et al. Focal neurological injury caused by *West Nile virus* infection may occur independent of patient age and premorbid health. *J Neurol Sci* 2005; 234: 93-8.
38. Iversson LB. Epidemia de encefalite por arbovírus na região sul do estado de São Paulo, Brasil, em 1975 e 1976: Aspectos da distribuição cronológica e geográfica dos casos. *Rev Saúde Pública* 1977; 11: 375-88.
39. Zeinad AK, Novaretti MCZ, Chamone. Vírus do Nilo ocidental? Nova ameaça à segurança transfusional? *Rev Bras Hematol Hemoter* 2004; 26(2): 114-21.
40. 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* (CDC) 2001; 7(4): 742-4.
41. Cruz-Pacheco G, Esteva L, Montañó-Hirose JA, Vargas C. Modelling the dynamics of West Nile Virus. *Bull Math Biol* 2005; 67: 1157-72.
42. Phalen DN, Dahlhausen B. West Nile Virus. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 2004; 13(2): 67-78.
43. Durand B, Chevalier V, Pouillot R, Labie J, Marendat I, Murgue B, et al. West Nile Virus Outbreak in Horses, Southern France, 2000: Results of a Serosurvey. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2002; 8(8): 777-82.
44. Allison AB, Mead DG, Gibbs SEJ, Hoffman DM, Stallknecht DE. West Nile Virus viremia in wild rock pigeons. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(12): 2252-5.
45. Ostlund EN, Andersen JE, Andersen M. West Nile encephalitis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2000; 16: 427-41.
46. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Outbreak of West Nile-Like Viral Encephalitis - New York, 1999. *Morb Mortal Wkly Rep* 1999; 38(48): 845-72.
47. Rappole JH, Derrickson SR, Hubálek Z. Migratory birds and spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2000; 4(6): 319-28.
48. Dupuis II AP, Marra PP, Kramer LD. Serologic evidence of West Nile Virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2003; 9(7): 860-3.
49. Pupo M, Guzmán MG, Fernández R, Llop A, Dickinson FO, Pérez D et al. West Nile Virus infection in humans and horses, Cuba. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2006; 12(6): 1022-4.
50. Eidson M, Komar N, Sorhage F, Nelson R, Talbot T, Mostashari F et al. and the West Nile Virus Avian Mortality Surveillance Group. Crow Deaths as a Sentinel Surveillance System for West Nile Virus in the Northeastern United States, 1999. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2001; 7(4): 615-20.
51. Ward MP. Epidemic West Nile virus encephalomyelitis: A temperature-dependent, spatial model of disease dynamics. *Prev Vet Med* 2005; 71: 253-64.
52. Trock SC, Meade BJ, Glaser AL, Ostlund EN, Lancotti RS, Cropp BC et al. West Nile Virus outbreak among horses in New York State, 1999 and 2000. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2001; 7(4): 745-7.
53. Connell SA. WNV vaccine safety. *Fort Dodge Profess Techn Serv* 2003; 23(10): 425.
54. Lichtensteiger CA, Heinz-Taheny K, Osborne TS, Novak RJ, Lewis BA, Firth ML. West Nile Virus encephalitis and myocarditis in wolf and dog. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(10): 1303-6.
55. Lawrie CH, Uzcátegui NY, Gould EA, Nuttall PA. Ixodid and Argasid tick species and West Nile Virus. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2004; 10(4): 653-7.
56. Hubálek Z, Halouzka J. West Nile Fever: a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe. *Synopses Emerg Infect Dis* (CDC) 1999; 5(5): 643-50.
57. White DJ, Kramer LD, Backenson PB, Lukacik G, Johnson G, Oliver J et al. Mosquito Surveillance and Polymerase Chain Reaction Detection of West Nile Virus, New York State. *Emerg infect dis* (CDC) 2001; 7(4): 643-9.
58. Hadfield TL, Turell M, Dempsey MP, David J, Park EJ. Detection of West Nile virus in mosquitoes by RT-PCR. *Mol Cell Probes* 2001; 15: 147-50.
59. Huang C, Slater B, Campbell M, Howard J, White D. Detection of arboviral RNA directly from mosquito homogenates by reverse-transcription polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 2001; 94: 121-8.
60. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 519-29.
61. Barenfanger J, Drake C, Lawhorn J, O'Brien J, Mueller T. Clinical impact of timely reporting of IgM for West Nile Virus. *J Clin Virol* 2005; 34:122-4.
62. Blitvich BJ, Fernandez-Salas I, Contreras-Cordero JF, Marleene NL, Gonzales-Rojas JI, Komar N et al. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Horses, Coahuila State, México. *Emerg Infect Dis* 2003; (CDC) 9(7): 853-6.

63. Payne AF, Binduga-Gajewska I, Kauffman EB, Kramer LD. Quantitation of flaviviruses by fluorescent focus assay. *J Virol Methods* 2006; 134: 183-9.
64. Kleiboeker SB, Lioacono CM, Rottinghaus A, Pue H, Johnson GC. Diagnosis of *West Nile virus* infection in horses. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 2-10.
65. Mattar S, Edwards E, Laguado J, González M, Alvarez J, Komar N. *West Nile Virus* Antibodies in Colombian Horses. *Letters Emerg Infect Dis* (CDC) 2005; 11(9): 1497-8.
66. Morales MA, Barrandeguy M, Fabbri C, Garcia JB, Vissani A, Trono K et al. *West Nile Virus* Isolation from Equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis* (CDC) 2006; 12(10): 1559-61.
67. Morales-Betouille ME, Morales H, Blitvich BJ, Powers AM, Davis EA, Klein R. *West Nile Virus* in Horses, Guatemala. *Letters Emerg Infect Dis* 2006; (CDC) 12(6): 1038-9.
68. Bosch I, Herrera F, Navarro J, Lentino M, Dupuis A, Maffei J, et al. *West Nile Virus*, Venezuela. *Letters Emerg Infect Dis* (CDC) 2007; 13(4): 651-3.
69. Miramontes R, Lafferty WE, Lind BK, Oberle MW. Is agricultural activity linked to the incidence of human *West Nile virus*?. *Am J Prev Med* 2006; 30(2): 160-3.
70. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Segundo inquérito sorológico em aves migratórias e residentes do Parque Nacional da Lagoa do Peixe/RS para detecção do vírus da febre do Nilo ocidental e outros vírus. *Boletim eletrônico epidemiológico*. 2004; 4(5): 1-8.
71. Brasil.IBGE. Brasil em síntese. 2000. Disponível: <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em julho de 2007
72. Iversson LB, Silva RAMS, Travassos APA, Barros VLRS. Circulation of eastern equine encephalitis, western equine encephalitis, ilheus, maguari and tacaiuma viruses in equines of the Brazilian Pantanal, South America. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1993; 35(4): 355-9.
73. Nunes AP, Tomás WM. Aves migratórias ocorrentes no Pantanal: Caracterização e conservação. (*Documentos, 62*) *Corumbá: Embrapa Pantanal*; 2004.
74. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Primeiro inquérito sorológico em aves migratórias e nativas do Parque Nacional da Lagoa do Peixe/RS para detecção do vírus do Nilo ocidental. *Boletim eletrônico epidemiológico*. 2003; 3(1): 3-12.
75. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Inquérito sorológico em aves migratórias e residentes de Galinhos/RN para detecção do vírus da febre do Nilo ocidental e outros vírus. *Boletim eletrônico epidemiológico*. 2004; 4(2): 1-12.
76. Julian KG, Mullins JA, Olin A, Peters H, Nix WA, Obeste MS et al. Aseptic meningitis epidemic during a *West Nile virus* avian epizootic. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(9): 1082-8.

Recebido em: 30/11/07

Versão final reapresentada em: 25/04/08

Aprovado em: 06/05/08

?