

Infecciones por el virus de Toscana, el virus del Nilo occidental y otros arbovirus de interés en Europa

Mari Paz Sánchez-Seco^a y José María Navarro^b

^aUnidad de Alerta y Emergencia. Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Viricas Importadas. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid. ^bServicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. España.

Los arbovirosis, infecciones virales transmitidas por artrópodos, son un problema de salud de ámbito mundial. La reaparición de brotes de algunas de ellas, como el dengue o la encefalitis por el virus del Nilo occidental, en regiones en las que no son habituales, justifica la necesidad de establecer medidas globales para su control. En Europa, las arbovirosis más frecuentes son: encefalitis transmitida por garrapatas (*Tick borne encephalitis* [TBE]), fiebre transmitida por flebotomos (*sand fly fever* Nápoles, Sicilia y Toscana) y ocasionalmente virus del Nilo occidental y fiebre de Crimea-Congo; aunque se ha detectado una circulación de otros virus potencialmente patógenos como Chikungunya. En España, la única arbovirosis autóctona descrita es la infección por el virus de Toscana, que produce meningitis linfocitaria de evolución benigna; no obstante, la presencia del virus del Nilo occidental asociado a meningoencefalitis en Francia, Portugal y países del Magreb incrementa el riesgo de su aparición esporádica en nuestro medio. Para su diagnóstico se requiere un alto índice de sospecha clínica y realización de técnicas específicas de laboratorio, fundamentalmente: detección de inmunoglobulina M (IgM), transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) y cultivo viral en líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o suero.

Palabras clave: Arbovirus. Nilo occidental. Toscana.

Infections due to Toscana virus, West Nile virus, and other arboviruses of interest in Europe

Arbovirosis, viral infection transmitted by arthropods, is a widespread health problem. Recurrent outbreaks caused by some of these viruses such as dengue or West Nile strains in regions where they do not appear frequently, justify the establishment of global control measures. Tick-borne encephalitis viruses, sand fly fever viruses (Toscana, Naples and Sicily) and occasionally West Nile

and Crimean-Congo fever viruses are the most frequent causes of arbovirosis in Europe, although circulation of other potentially pathogenetic viruses such as Chikungunya has also been detected.

The only native arbovirosis described in Spain is infection produced by Toscana virus, which causes aseptic, usually benign meningitis. Nevertheless, some West Nile virus-associated meningo-encephalitis cases have been described in France, Portugal and countries in the Magreb region, increasing the risk of sporadic occurrence of these processes in our country. To achieve an accurate diagnosis, high clinical suspicion is required as well as highly specific laboratory techniques, mainly based on IgM detection, RT-PCR and viral culture of CSF and/or serum.

Key words: Arbovirus. West Nile. Toscana.

Introducción

Los arbovirus (*Arthropod Borne VIRUSES*) son un grupo heterogéneo de virus, pertenecientes a distintas familias y géneros, con la característica común de ser transmitidos por artrópodos. La mayoría de ellos pertenecen a las familias *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae* y *Bunyaviridae*¹. Hay 534 especies virales registradas en el Catálogo Internacional de Arbovirus, de las cuales 134 son patógenos para el hombre y prácticamente todas ellas son virus ARN. El hombre se infecta accidentalmente cuando es picado por el vector en lugar de su huésped vertebrado principal. El resultado suele ser una vía muerta para la transmisión del virus, ya que el hombre no es, en general, el huésped preferido del artrópodo hematófago, y por lo tanto habrá pocas posibilidades de que sea picado por otro artrópodo. Además la viremia es de corta duración y de bajo título.

Los principales reservorios vertebrados para los arbovirus de importancia en salud pública son las aves y los roedores, y los principales vectores son dípteros y garrapatas. En la figura 1 se muestra en términos generales cuál sería el ciclo biológico de un arbovirus.

Para algunos arbovirus la distribución es universal, mientras que para otros es más restringida puesto que viene determinada en gran medida por el rango de sus artrópodos vectores al haberse adaptado a un binomio vector transmisor/huésped vertebrado específico. Por lo tanto, para realizar un adecuado diagnóstico de estas infecciones es fundamental que en la historia clínica se recojan los antecedentes de viajes y posibles exposiciones del paciente.

Correspondencia: Dra. M.^ªP. Sánchez-Seco. Unidad de Alerta y Emergencia. Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Viricas Importadas. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ctra. Majadahonda-Pozuelo, km 2. 28220 Majadahonda. Madrid. España. Correo electrónico: paz.sanchez@isciii.es

La mayoría de las infecciones por arbovirus son asintomáticas. El cuadro clínico, cuando se manifiesta, puede ser muy variado: desde un síndrome febril autolimitado, indistinguible clínicamente de otras infecciones virales comunes, ocasionalmente exantemático, hasta graves cuadros neurológicos (meningitis o meningoencefalitis) o de fiebres hemorrágicas, muchos de ellos mortales².

La incidencia de estas infecciones tiende a presentar un patrón estacional, siendo mayor durante el verano en las regiones templadas y en las lluviosas en los trópicos, debido a la mayor actividad de los vectores durante estas estaciones.

En la tabla 1 se relacionan los principales arbovirus que afectan a los seres humanos, su distribución geográfica fundamental y las enfermedades asociadas con más frecuencia a éstos.

En las últimas décadas se ha detectado un incremento de arbovirosis que se creían controladas o que se han introducido en nuevas áreas geográficas que antes no se veían afectadas, lo cual ha ocasionado serios problemas de salud pública. La aparición de estas enfermedades se ve favorecida por múltiples factores como el crecimiento de la población mundial, la incursión humana en nuevos ecosistemas, el incremento de la movilidad de la población, el desarrollo de las comunicaciones que permite viajes más rápidos, los cambios climáticos y el colapso de los programas de salud pública y de control de los vectores, entre otros. Algunos ejemplos en este sentido son las recientes epidemias de dengue, fiebre amarilla, fiebre del Valle del Rift, encefalitis

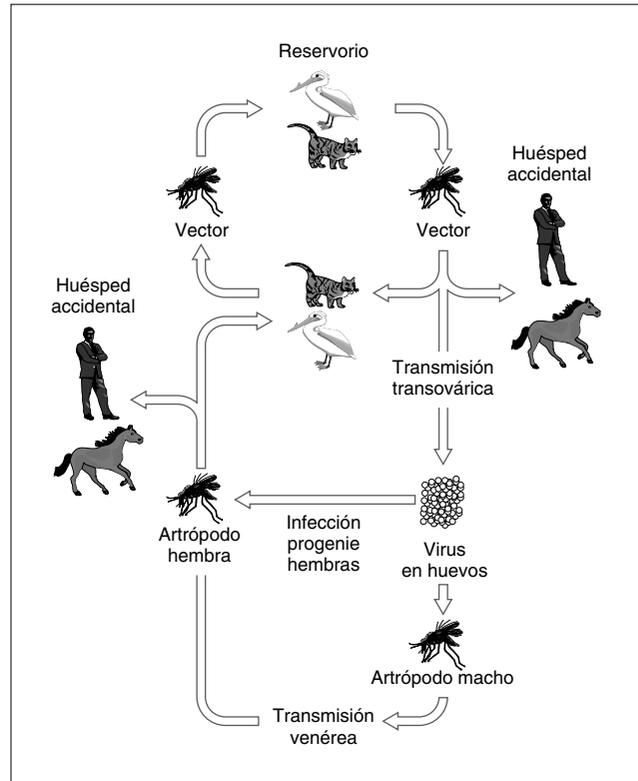


Figura 1. Ciclo biológico general de los arbovirus.

TABLA 1. Arbovirus de mayor importancia clínica para el hombre

Virus	Vector	Huésped	Clínica	Distribución geográfica
<i>Togaviridae / Alphavirus</i>				
Chikungunya	Mosquitos	Humanos, primates	SF, PA	Af, As
Ross River	Mosquitos	Humanos, marsupiales	SF, PA	O
Mayaro	Mosquitos	Aves	SF	AS
O'nyong-nyong	Mosquitos	¿?	SF	Af
Sindbis	Mosquitos	Aves	SF	As, Af, O, E, A
Barmah Forest	Mosquitos	¿?	SF, PA	O
Encefalitis equina oriental	Mosquitos	Aves	SF, ME	A
Encefalitis equina occidental	Mosquitos	Aves, conejos	SF, ME	A
Encefalitis equina de Venezuela	Mosquitos	Roedores	SF, ME	A
<i>Flaviviridae / Flavivirus</i>				
Dengue 1-4	Mosquitos	Humanos, primates	SF, FH	Trópicos
Fiebre amarilla	Mosquitos	Humanos, primates	SF, FH	Af, AS
Encefalitis japonesa	Mosquitos	Aves, cerdos	SF, ME	As, Pacífico
Encefalitis del Valle Murray	Mosquitos	Aves	SF, ME	Australia
Rocío	Mosquitos	Aves	SF, ME	AS
Encefalitis de San Luis	Mosquitos	Aves	SF, ME	A
Virus del Nilo occidental	Mosquitos	Aves	SF, ME	Af, E, AN
Enfermedad de los bosques de Kyasanur	Garrapatas	Primates, roedores, camellos	SF, FH, ME	India, Arabia Saudí
Omsk	Garrapatas	Roedores	SF, FH	As
Encefalitis transmitida por garrapatas	Garrapatas	Aves, roedores	SF, ME	E, As, AN
<i>Bunyaviridae / Phlebovirus</i>				
Fiebre del flebotomo	Flebotomos	¿?	SF,	E, Af, As
Fiebre del Valle Rift	Mosquitos	¿?	SF, ME, FH	Af, OM
Virus de Toscana	Flebotomos	¿?	SF, M, ME	Mediterráneo
<i>Bunyaviridae / Bunyavirus</i>				
Encefalitis de la Crosse	Mosquitos	Roedores	SF, ME	AN
Encefalitis de California	Mosquitos	Roedores	SF, ME	AN, E, As
Oropouche	Midges	¿?	SF	A
<i>Bunyaviridae / Nairovirus</i>				
Fiebre hemorrágica del Congo-Crimea	Garrapatas	Roedores	SF, FH	E, As, Af

FH: fiebre hemorrágica; M: Meningitis; ME: meningoencefalitis; PA: poliartritis; SF: síndrome febril. Af: África; AN: América del Norte; AS: América del Sur; As: Asia; E: Europa; O: Oceanía; OM: Oriente Medio.

japonesa, encefalitis por el virus del Nilo occidental (*West Nile*, VWN) o encefalitis equina venezolana.

Las arbovirosis más importantes en Europa son la encefalitis transmitida por la mordedura de garrapatas (*tick borne encephalitis*, TBE), sobre todo en países del centro y este europeos, e infecciones transmitidas por picadura de flebotomos en países ribereños del Mediterráneo. No obstante, cada vez se comunican con más frecuencia casos esporádicos de encefalitis por VWN, y existe una gran preocupación por la introducción de arbovirosis propias de otras latitudes como los virus Chikungunya, Sindbis, fiebre del valle del Rift o fiebre hemorrágica de Crimea-Congo.

En España las arbovirosis que requieren mayor atención en la actualidad son, por un lado, la infección por VWN, ya que se han descrito casos recientes en países limítrofes como Francia, Portugal^{3,4} y en el norte de África, y la infección por el virus de Toscana (VTOS), que hasta la fecha es el único arbovirus patógeno para el hombre detectado en nuestro país.

Morfología, ciclo biológico

El VTOS es uno de los miembros del complejo de los virus productores de la fiebre de los flebotomos, dentro de la familia *Bunyaviridae*, en el género *Phlebovirus*. En este género hay además otros patógenos importantes para el ser humano como los serotipos de Nápoles y Sicilia, productores de un síndrome febril denominado "fiebre de los flebotomos", así como el virus productor de la fiebre del Valle del Rift¹. VTOS es un virus esférico, de 80-120 nm de diámetro, envuelto y cuyo genoma está compuesto por tres moléculas de ARN (S, M y L)⁵. La polaridad del genoma es negativa excepto para el segmento S, el más pequeño, que tiene una estrategia de codificación en ambos sentidos: la proteína N, que forma las nucleocápsidas y es muy inmunogénica, se traduce a partir de un ARN mensajero (ARNm) subgenómico complementario al ARN viral correspondiente al extremo 3' del segmento, mientras un ARNm subgenómico correspondiente al extremo 5' codifica una proteína no estructural (NS_s) cuya función no se conoce. El fragmento M codifica las glucoproteínas G1 y G2 que se insertan en la envuelta viral y son responsables del reconocimiento del receptor celular, confieren al virus capacidad de hemaglutinación e inducen respuesta inmunitaria protectora. El segmento L es el más grande y en él está codificada la polimerasa que forma también parte de las nucleocápsidas. Los segmentos genómicos tienen además secuencias complementarias, propias de grupo, en los extremos 3' y 5' que pueden hibridar formando bucles que se cree son importantes en los procesos de replicación, transcripción y empaquetamiento y ensamblaje. El VWN forma parte, junto con virus como el de la fiebre amarilla o los virus dengue, del serogrupo de la encefalitis japonesa, dentro del género *Flavivirus* en la familia *Flaviviridae*¹. Es un virus esférico, de 50 nm de diámetro, envuelto y cuyo genoma está compuesto por una molécula de ARN de polaridad positiva y banda simple de unos 11.000 nucleótidos con una fase de lectura abierta que codifica 10 proteínas: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5 (no estructurales) y C (*core*) M (membrana) y E (envuel-

ta), responsables estas últimas del tropismo, rango de huésped, replicación, ensamblaje y estimulación de respuesta de linfocitos T y B. Los anticuerpos neutralizantes van dirigidos frente a los determinantes antigénicos situados en la proteína E. El ARN tiene una zona 5' no codificante seguida de una única fase de lectura abierta con los genes de las tres proteínas estructurales y luego los de las no estructurales⁶.

Filogenéticamente las cepas de VWN forman dos linajes, I (dentro del que se pueden diferenciar tres Clados con diferente distribución geográfica) y II, aunque recientemente se ha descrito un nuevo virus que podría formar un tercer linaje^{7,8}.

Epidemiología

El VTOS es transmitido por *Phlebotomus perniciosus*, de donde se aisló por primera vez en 1971 en la región de Toscana (Italia central), y por *P. perfiliewi*⁵. Se cree que existe un reservorio animal aunque no se ha identificado. Así, tras las campañas de desinsectación de 1940 para la erradicación de la malaria, otras infecciones virales transmitidas por flebotomos desaparecieron prácticamente, mientras que no ocurrió lo mismo con el VTOS. Se ha descrito la transmisión vertical en colonias de flebotomos en el laboratorio, aunque el porcentaje de hembras infectadas disminuye tras cada generación, lo cual sugiere la necesidad de un huésped amplificador⁹.

La distribución del virus es típicamente mediterránea aunque ha sido mediante el estudio de viajeros, fundamentalmente suecos y alemanes, como se describió la presencia de estos virus en España, Portugal, Chipre y Turquía, además de en Italia^{10,11}. En España el virus está ampliamente distribuido, y recientemente se han descrito los primeros casos de infección por VTOS en Francia¹²⁻¹⁴. La elevada tasa de infección de viajeros procedentes de zonas no endémicas y la caída en la incidencia de la infección paralela al incremento en la edad de la población, residente en zonas de circulación viral, sugieren una inmunidad duradera¹⁵.

En Italia, en un estudio realizado durante 7 años en muestras de pacientes con afectación neurológica de posible etiología viral, se demostró que, aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas, el VTOS era la causa del 52,3% de los casos estudiados y podía aumentar hasta un 80% en la época de verano, coincidiendo con una mayor actividad del vector^{15,16}.

En nuestro país se aísla por primera vez el virus en 1988, en pacientes con meningitis linfocitaria. La tasa de anticuerpos frente al virus en la población general es alta^{12,13}. Además, se ha secuenciado parte de los segmentos S y L de algunas de estas muestras, y se ha determinado que existen diferencias del 15-19% a nivel de nucleótidos con el aislado italiano, lo cual indica que tal vez en España circule una variante, presente también en Francia según resultados recientes, diferente a la que circula en Italia, lo cual es posible que ponga de manifiesto las diferencias entre las poblaciones de flebotomos presentes en ambos países, hecho aún por determinar^{17,18}.

El VWN está ampliamente distribuido: el linaje I puede afectar a seres humanos, caballos y aves y en él hay cepas procedentes de África, Europa, Oriente Medio, América

del Norte, India y Australia, mientras que el linaje II sólo infecta a animales y en él hay cepas del África subsahariana y Madagascar^{6,8}.

El virus se aisló por primera vez en 1937 de la sangre de una mujer con síndrome febril en la provincia de West Nile, Uganda, y posteriormente de pacientes, mosquitos y aves en Egipto. Históricamente ha sido responsable de brotes importantes, humanos y equinos, y en los últimos años se ha detectado un aumento en su número y su virulencia (tabla 2)¹⁹⁻²¹. Debe destacarse su rápida expansión en América del Norte, donde se detectó por primera vez en 1999, y avanzó de forma contenida hasta 2001 (unos 60 casos anuales) y explosiva a partir de entonces, extendiéndose de costa a costa y produciendo más de 10.000 casos en seres humanos entre 2002 y 2003. Se ha propagado también a Canadá, México y el Caribe.

En Europa se aísla en 1963 en los deltas del Ródano y del Volga y posteriormente en Portugal (1972), Eslovaquia (1974), Moldavia (1974), Ucrania (1975), Hungría (1976), Rumania (1996), República Checa (1997) e Italia (1998). En la década de 1960 se observaron casos en Francia, Rusia, Rumania, y desde entonces en Bielorrusia, Ucrania, Rumania y República Checa (tabla 2)²¹. La circulación del virus es mayor durante el período de máxima actividad de los vectores: de julio a septiembre.

En España, mediante estudios seroepidemiológicos llevados a cabo en el entorno del Delta del Ebro y el noroeste español y entorno de Doñana, se han visto indicios de la presencia de VWN y/o de otros flavivirus relacionados^{22,23}.

La principal ruta de transmisión del VWN es la de las picaduras de mosquitos ornitófaos, principalmente culícidos, aunque se han descrito otras menos importantes. Los focos endémicos se localizan en las inmediaciones de zonas húmedas, donde el ciclo selvático entre vector y aves silvestres se mantiene gracias a la abundancia de los mismos. El riesgo de epidemias aumenta si en las cercanías hay zonas urbanas con aguas superficiales que atraigan a las aves migratorias, que desempeñan un papel fundamental en la diseminación del virus. A diferencia de las aves, los mamíferos no son reservorios eficientes.

El VWN es considerado un paradigma de virus emergente. La expansión y aumento en incidencia parecen deberse a causas de naturaleza antropogénica (cambio climático, incremento en la circulación de personas y mercancías, etc.). Sin embargo, existen diferencias importantes en el patrón epidemiológico de la circulación del virus en América del Norte y en Europa, o incluso en México y el Caribe: a) el virus ha avanzado continua y rápidamente por toda América del Norte, mientras que en Europa ha quedado confinado en brotes localizados y no recurrentes; b) la afectación en seres humanos es mayor en la epidemia americana, y c) la patogenicidad en algunas especies de aves es muy superior a la observada en Europa. Estas diferencias pueden surgir de factores intrínsecos a la propia variante del virus que predomina en cada caso, si bien el virus americano tiene su origen en Israel²⁴, o bien de factores ambientales propios de cada zona. Existe cierta controversia en cuanto a posibles diferencias en el comportamiento de los principales vectores, pertenecientes al complejo *Culex pipiens*, tanto en América del Norte como en Europa: en América del Norte picarían indistintamente a aves y a seres humanos, y en Europa habría poblaciones de mosquitos ornitófaos y antropófaos, faltando un vec-

TABLA 2. Brotes por VWN en el entorno Mediterráneo en los últimos años

Año	País	Seres humanos (n.º)		Caballos (n.º)	
		Casos	Muertes	Casos	Muertes
1994	Argelia	50	2		
1996	Marruecos	1	1	94	42
1996	Rumania	393	17		
1997	Túnez	173	8		
1998	Italia			14	6
1999	Rusia	318	40		
1999	Israel	2	2		
2000	Francia			76	21
2000	Israel	417	35	76	
2000	Rusia	56			
2001	Rusia	64	(5-10%)		
2003	Francia	5	5		
2003	Marruecos			8	

VWN: virus del Nilo occidental.

tor "puente" eficaz entre ambas especies²⁵. Sólo acontecimientos como la aparición de un vector con distinto comportamiento desencadenaría el tipo de brote que ha predominado en Europa en los últimos años. Por otro lado, la descripción en el continente europeo de nuevos virus similares a VWN permite plantear una nueva hipótesis según la cual este nuevo virus u otro(s) relacionado(s) estaría(n) circulando en la población del viejo continente sin causar sintomatología grave y permitirían la adquisición de inmunidad frente a infecciones por VWN.

Patogenia

Existen muy pocos datos concluyentes sobre la patogenia de la infección por el VTOS. Mucho mejor estudiada es la referida a otras arbovirosis, en particular aquellas relacionadas con procesos neurológicos, y en especial la infección por VWN. En general, se transmiten al hombre por picadura del vector apropiado, aunque en algunos casos, tal como se ha descrito en los recientes brotes de VWN en Estados Unidos, pueden producirse infecciones tras transfusiones de hemoderivados, postrasplante de órganos sólidos, a través de lactancia materna, por transmisión vertical maternofetal o postexposición en personal de laboratorio²⁶. En cualquier caso, el virus, tras superar la barrera cutánea, se deposita directamente en linfa o sangre, y se produce una diseminación precoz y una posterior multiplicación en células del endotelio vascular, células reticuloendoteliales de nódulos linfáticos, fibroblastos y células de Langerhans, para después, tras la replicación, reintroducirse a través de la linfa en el torrente circulatorio y alcanzar los órganos diana.

Se produce así una fase de viremia, de duración variable entre 3 y 7 días, que en seres humanos suele ser de baja intensidad, lo que dificulta la infección de nuevos artrópodos. Este período puede ser asintomático, cursar como un cuadro seudogripal con fiebre, escalofríos y malestar general que se autolimita en el tiempo (20% de los infectados) o

evolucionar a un cuadro más agresivo, generalmente por afectación del sistema nervioso central (SNC) (1 de cada 150-300 infectados).

El virus a veces se aísla en sangre durante los primeros días tras el inicio de la enfermedad y antes de que aparezcan los síntomas neurológicos. Si alcanza el SNC, lo hace a través del endotelio vascular, por transferencia pasiva o por replicación en las células endoteliales, o por transporte axonal a través de las neuronas olfatorias.

Trabajos recientes demuestran que la respuesta temprana de células B y de anticuerpos tiene un papel fundamental para evitar la diseminación y el posterior alcance del SNC por VWN²⁷. La producción de anticuerpos dirigidos frente a epítopos de la proteína E confieren una protección duradera, a veces de por vida, frente a futuras reinfecciones. Asimismo, la producción intratecal de anticuerpos neutralizantes parece desempeñar un papel clave en la evolución y la recuperación de los pacientes con problemas neurológicos.

Dentro del cerebro los virus se diseminan entre las células por contigüidad. Los cambios patológicos pueden variar desde congestión e inflamación meníngea hasta edema cerebral y/o encefalitis generalizada con predilección por el hipocampo, la corteza temporal, el tálamo, la sustancia negra, el cerebelo, las áreas periventriculares del cerebro y la médula espinal anterior. Puede aparecer degeneración neuronal focal y necrosis que facilita la formación de nódulos gliales y estructuras espongiiformes, así como inflamación y degeneración del asta anterior de la médula que puede explicar los cuadros de parálisis flácida asociados a la infección por VWN.

Se producen además infiltrados inflamatorios perivasculares consistentes en linfocitos T CD4 y CD8 activados, macrófagos y linfocitos B. En líquido cefalorraquídeo (LCR) los linfocitos T se encuentran en mayor proporción que en sangre periférica y su activación se evidencia por la expresión de HLA-DR seguida por CD25 (receptores de IL-2) y CD71 (receptores de transferrina) y aumento de la concentración en LCR de neopterina y β_2 -microglobulina.

Por último, diferentes procesos pueden contribuir a la muerte neuronal como apoptosis, hinchazón citoplasmática, vacuolización y rotura de la membrana celular.

La inmunopatología tiene un papel importante en la meningoencefalitis por VWN y otros flavivirus; este hecho viene apoyado por diferentes modelos experimentales y la observación de que en pacientes inmunodeprimidos, a pesar de tener viremias muy elevadas, las manifestaciones neurológicas tardan más en producirse que en pacientes inmunocompetentes.

La edad avanzada se considera el factor de riesgo más importante para el desarrollo de complicaciones neurológicas tras infección por el VWN, bien por el retraso en la respuesta de anticuerpos (inmunosenescencia), que en sangre periférica no frenaría el avance del virus, con el consiguiente aumento de la duración y los niveles de viremia, bien por cambios estructurales o funcionales en el SNC, que de alguna manera alterarían la barrera hematoencefálica facilitando la invasión del SNC por parte del virus²⁸. En los años 1999 y 2000 se determinó en Nueva York, utilizando como referencia a pacientes con infección por el VWN de entre 0 y 19 años, que la incidencia de enfermedad grave neurológica en pacientes de 50 a 59 años fue 10 veces mayor y que en pacientes mayores de 80 años fue 43 veces mayor²⁹.

Clínica

Infección por el VTOS

Las altas tasas de seroprevalencia de infección por el VTOS encontradas en España y en otras áreas, que en algunas zonas alcanza el 20% de la población global y casi el 50% en mayores de 65 años, unido al relativamente bajo número de casos de enfermedad descritos, permiten suponer que mayoritariamente se trata de una infección subclínica y que sólo de forma ocasional se manifiesta provocando cuadros neurológicos, fundamentalmente meningitis aséptica y muy rara vez encefalitis o meningoencefalitis³¹. Las manifestaciones clínicas de la infección son más frecuentes en adultos jóvenes, aunque también ocurren en niños³².

Los principales brotes de infección neurológica por el VTOS han ocurrido entre población susceptible procedente de países en los que no circula VTOS y que llega a una área endémica¹⁰. Esto apunta a la posibilidad de que la población nativa de estas zonas se vea afectada en menor medida debido a la inmunidad adquirida a lo largo de años en contacto con el virus.

En general, la meningitis por VTOS se caracteriza por cursar con fiebre alta, cefalea, vómitos, y por tener carácter benigno y resolverse de manera espontánea, a corto o medio plazo, sin secuelas neurológicas permanentes^{32,33}. Ocasionalmente, la enfermedad se presenta de una forma más virulenta, como meningoencefalitis o encefalitis sin meningitis³⁴, en algunos casos de curso grave³⁵.

En cuanto a los datos analíticos complementarios, en una serie de 17 pacientes con meningitis por VTOS detectados en España entre 1988 y 2003, el 100% presentaron en LCR pleocitosis con predominio linfocitario, valores de glucosa normales y proteínas elevadas en el 70% de casos; el 29,4% presentó leucocitosis en sangre periférica y sólo el 5,9% leucopenia³².

El período de incubación del VTOS no está bien estudiado, pero debe de ser prolongado ya que en la mayoría de los casos están presentes en el suero de los pacientes en el momento de iniciarse los síntomas tanto anticuerpos IgM como IgG³⁶. En los casos de infección importada, la enfermedad suele manifestarse alrededor del quinto día del regreso de la zona endémica visitada.

Infección por el VWN

Aunque la presentación clínica varía según los brotes, aproximadamente el 80% de infecciones por VWN son asintomáticas y el 20% restante, tras un período de incubación de 3 a 14 días, desarrollan una enfermedad febril ligera (fiebre por VWN) de comienzo agudo, que dura de 3 a 6 días y se acompaña, en mayor o menor grado, de malestar general, anorexia, náuseas, vómitos, dolor ocular, cefalea, fotofobia, mialgias, artralgias, exantema y linfadenopatía.

Sólo uno de cada 150-300 casos de infección por VWN presenta una enfermedad neurológica grave, siendo más frecuente la encefalitis que la meningitis. Los síntomas generales más comúnmente asociados a estos pacientes son: fiebre (91-98%), cefalea (47-77%), rigidez de nuca (19-57%) debilidad (56%), síntomas gastrointestinales (31-53%) y deterioro mental (34-46%). Algunos presentan exantema maculopapular o morbiliforme (19-21%) extendido por cuello, tronco y ambas extremidades. El daño neurológico

puede manifestarse por la presentación de ataxia y signos extrapiramidales, alteración de pares craneales, mielitis, neuritis óptica, polirradiculitis y convulsiones. De forma ocasional puede presentarse un cuadro de debilidad muscular y parálisis flácida, similar a la poliomielitis²⁸⁻³⁰.

En los análisis complementarios destacan habitualmente: leucocitosis moderada con linfocitopenia y ocasionalmente anemia, hiponatremia, pleocitosis con predominio linfocitario en LCR, proteínas universalmente elevadas y glucosa normal.

En el 30% de los pacientes con encefalitis con resonancia magnética (RM) se observa ensanchamiento de leptomeninges y áreas periventriculares.

Muy rara vez pueden aparecer complicaciones en otros órganos y tejidos, como miocarditis, pancreatitis o hepatitis fulminante.

La mortalidad de los pacientes con cuadros graves por VWN varía según las series publicadas, y varía desde el 4% (Rumania, 1996), hasta el 12% (Nueva York, 1999) o el 14% (Israel, 2000)^{29,30}.

Se debe sospechar infección neurológica por VWN, como se expresa en la tabla 3, en adultos, sobre todo mayores de 50 años, que desarrollan una encefalitis o meningitis inexplicable, en verano y principios de otoño. El índice de sospecha aumenta si existe actividad por VWN enzoótica, otros casos humanos cercanos en el tiempo o antecedente de viajes recientes a zonas de riesgo.

Diagnóstico de laboratorio

En las arbovirosis en general resulta de especial relevancia recoger en la historia clínica datos como viajes recientes o picaduras de insectos. En nuestro medio el índice de sospecha aumenta en cuadros neurológicos que se presentan en meses cálidos (de junio a septiembre).

Para el diagnóstico de arbovirosis en el laboratorio podemos recurrir a técnicas de detección directa mediante cultivo y/o amplificación del genoma viral (ya que normalmente, cuando existe afectación neurológica, hay también replicación intratecal del virus) y a técnicas indirectas de medida de la respuesta serológica^{6,19}.

La muestra fundamental para el diagnóstico directo es el LCR; ocasionalmente puede enviarse suero, pero debido a que en general existe un período breve de viremia en estos procesos, su utilidad es mucho menor. El LCR y/o suero deben tomarse en los primeros días de la infección (fig. 2) y es imprescindible una buena conservación hasta su análisis (a 4 °C si se tarda en procesar menos de 48-72 h y a -80 °C o en nitrógeno líquido si el proceso se demora más).

El aislamiento en el laboratorio de los arbovirus a partir de muestra clínica se puede realizar, en general, en ratones lactantes o en cultivo celular, generalmente en células Vero. Sin embargo, dicho aislamiento sólo se consigue en una pequeña proporción de casos debido a la corta viremia y a la baja carga viral. El aislamiento del virus requiere de una posterior confirmación mediante amplificación genómica por técnicas de transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), inmunofluorescencia con anticuerpo monoclonal específico, o neutralización con antisueros específicos, que en el caso de VWN debe realizarse en un laboratorio con nivel 3 de bioseguridad.

Dentro de las técnicas de detección directa, se obtiene una mayor rentabilidad con la detección y amplificación del genoma viral. El diagnóstico molecular es rápido y capaz de detectar el virus en pequeña concentración; sin embargo, en los virus con genoma ARN (la mayoría de los arbovirus) es preciso tener muy en cuenta la variabilidad genética inherente a los mismos. Así, las técnicas moleculares clásicas para la detección de VTOS han sido diseñadas a partir del conocimiento de secuencias de cepas italianas, y se ha demostrado que no funcionan con las cepas de nuestro entorno debido a la variabilidad genética presente en la zona de unión de los iniciadores de la reacción de amplificación, por lo que resulta más adecuado utilizar técnicas específicas o genéricas en las que esta variabilidad genética se haya tenido en cuenta^{17,37,38}. Lo mismo puede aplicarse a la detección molecular del VWN, para lo que deben utilizarse técnicas específicas en cuyo diseño se hayan estudiado las secuencias de diferentes cepas de los distintos linajes o técnicas genéricas de amplio espectro de detección³⁹.

TABLA 3. Definición del caso de un síndrome neurológico por VWN

Compatibilidad clinicoepidemiológica:
 Fiebre ≥ 38 °C y todos los apartados siguientes:
 Encefalitis o meningoencefalitis, o meningitis aséptica, o parálisis flácida
 Sin otra causa microbiológica alternativa
 Exposición en alguna de las siguientes circunstancias:
 Período del año en el que la transmisión por arbovirus es posible
 En un área donde la transmisión de arbovirus es posible
 Después de transfusión sanguínea o trasplante de órganos

Caso probable: «cumplimiento de criterios definidos en el apartado A y, además, IgM positiva en suero» frente a VWN

Caso confirmado: cualquiera de las siguientes circunstancias:
 Aislamiento de VWN en LCR o suero
 Detección de IgM frente a VWN en LCR.
 Detección de secuencias de ARN específicas de VWN por RT-PCR en LCR o suero
 Seroconversión o seroincremento de anticuerpos neutralizantes en suero

VWM: virus del Nilo occidental; LCR: líquido cefalorraquídeo; RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa.

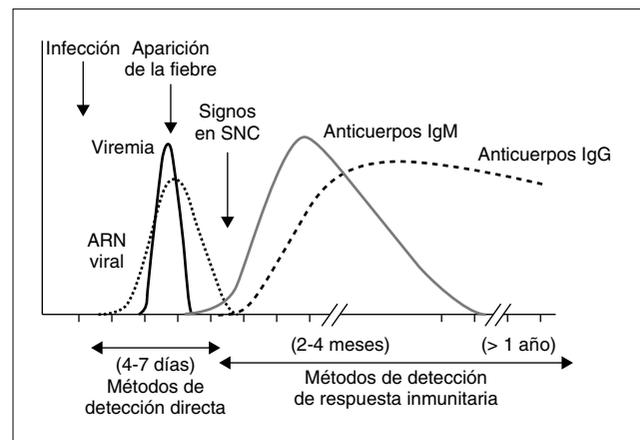


Figura 2. Cinética de aparición de la viremia y la respuesta inmunitaria en las arbovirosis.

Los métodos serológicos se consideran complementarios al diagnóstico directo por cultivo y/o biología molecular.

Las muestras adecuadas para el diagnóstico serológico son suero y LCR y fundamentalmente se detectan inmunoglobulinas de tipo IgM e IgG.

Las técnicas más utilizadas son las inmunoenzimáticas (ELISA) tanto para detectar IgG como IgM frente a la proteína N, que contiene los epítomos inmunodominantes^{40,41}. La detección de IgM en LCR es el procedimiento más sensible en el caso de síndrome neurológico por el VWN, aunque debe considerarse la posibilidad de que existan anticuerpos IgM, con bajo título, en períodos de varios meses y que en los primeros días tras la infección el resultado puede ser aún negativo, por lo que sería necesario tomar una muestra de suero y/o LCR en fase aguda y otra en fase convaleciente (10-15 días después del inicio del proceso) para poder realizar el diagnóstico mediante seroconversión o seroincremento (aumento cuádruple del título de anticuerpos entre fase aguda y convaleciente)⁴².

Por otro lado, debido a reacciones cruzadas entre miembros del mismo género, sobre todo en el caso de los flavivirus, la interpretación de las técnicas de ELISA puede ser complicada; por este motivo, para la confirmación del diagnóstico se requieren ensayos más complejos como seroneutralización de placas de crecimiento del virus, como ya se ha mencionado, que en el caso del VWN precisa para su ejecución de un laboratorio con nivel 3 de bioseguridad.

Otras técnicas serológicas menos comunes que se han utilizado para el VTOS y el VWN son: inhibición de la hemaglutinación, inmunofluorescencia, fijación de complemento, *Western-blot* o neutralización del efecto citopático.

Tratamiento

Hasta la fecha no existe ninguna medicación antiviral que se haya mostrado plenamente eficaz para tratar la infección grave por el VWN o el VTOS, por lo que el tratamiento es fundamentalmente sintomático y de soporte. En el caso del VWN, están en marcha diferentes ensayos clínicos, con distintas orientaciones terapéuticas que incluyen desde la utilización, de forma aislada o en diferentes combinaciones, de antivirales como la ribavirina, el interferón α (IFN- α) o la inmunización pasiva con anticuerpos monoclonales o sueros hiperinmunes.

La ribavirina ha demostrado su eficacia frente a otros flavivirus, como el virus de la hepatitis C (VHC), el dengue, la fiebre amarilla y la encefalitis japonesa, así como frente al virus Lassa, y en estudios *in vitro* a muy altas dosis muestra actividad frente al VWN⁴³. No obstante, el requerimiento de alcanzar estas altas dosis en tejido neurológico limita en gran medida su utilidad para tratar infecciones graves por VWN en seres humanos.

También en modelos experimentales se ha demostrado la posible utilidad del IFN- α , pero aún no existen estudios concluyentes en seres humanos⁴⁴.

La administración de inmunoglobulinas específicas está justificada tras comprobarse, como reflejamos en el apartado de patogenia de la infección, el papel fundamental que tiene la respuesta de anticuerpos en la progresión de la enfermedad; esta vía es probablemente la que cuenta

con mayores posibilidades de éxito como medida terapéutica en el futuro, dentro de las que actualmente están en desarrollo.

Profilaxis

A diferencia de lo que sucede con otros flavivirus, como el virus de la fiebre amarilla, en la actualidad no existe ninguna vacuna eficaz frente a la infección por el VWN o por el VTOS, por lo que la prevención se basa fundamentalmente en la utilización de medidas que minimicen el riesgo de exposición a posibles vectores en zonas de riesgo, entre ellas las más adecuadas son el uso de repelentes de mosquitos y ropas adecuadas que cubran la mayor superficie corporal posible y evitar salidas al exterior en las primeras horas de la tarde y la noche.

Vigilancia y control de las arbovirosis

Ante el riesgo de diseminación y posible emergencia de las diferentes arbovirosis se hace necesario implantar medidas de vigilancia y control de las mismas. Éstas deben adoptarse sobre cada uno de los elementos que intervienen en el ciclo vital del virus: vector, huésped intermediario y huéspedes finales (seres humanos y caballos). En el caso de infección por el VWN, el grado de implementación de medidas que se adopte en cada país por los distintos sistemas nacionales de salud será proporcional a la posibilidad de aparición de la arbovirosis en su medio; pudiendo variar desde la implantación de medidas de vigilancia y control activo y continuo sobre todos y cada uno de los distintos elementos que configuran el ciclo vital del virus, justificada en países donde la infección por el VWN está claramente establecida y la probabilidad de brotes en seres humanos es muy alta, hasta la vigilancia sobre algunos elementos del ciclo, como la búsqueda de la presencia del virus en cuadros neurológicos en seres humanos compatibles con infección por el VWN o en vectores de forma temporal, en países donde la probabilidad es baja, como sucede actualmente en España²⁶.

Bibliografía

1. Karabatsos N. International catalogue of arbovirus, including certain other viruses of vertebrates. Am Soc Trop Med Hyg. 1985. p. 84-6.
2. Tsai TF, Chandler LJ. Arboviruses. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editores. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003. p. 1553-69.
3. Connell J, McKeown P, Garvey P, Cotter S, Conway A, O'Flanagan D, et al. Two linked cases of West Nile virus (WNV) acquired by Irish tourists in the Algarve, Portugal. Eurosurveillance Weekly 8. 2004. URL disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/040805.asp>
4. Mailles A, Dellamonica P, Zeller H, Durand JP, Zientara S, Goffette R, et al. Human and equine West Nile virus infections in France, August-September 2003. Eurosurveillance Weekly 7 2003. URL disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2003/031023.asp>
5. Valassina M, Cusi MG, Valensin PE. A Mediterranean arbovirus: the Toscana virus. J Neurovir. 2003;9:577-83.
6. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler D. West Nile virus. Lancet. 2002;2:519-29.
7. Scherret JH, Mackenzie JS, Hall RA, Deubel V, Gould EA. Phylogeny and molecular epidemiology of West Nile and Kunjin viruses. Curr Top Microbiol Immunol. 2002;267:373-90.
8. Bakonyi T, Hubalek Z, Rudolf I, Nowotny N. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. Emerg Infect Dis. 2005;11:225-31.

9. Verani P, Ciufolini MG, Cacioli S, Renzi A, Nicoletti L, Sabatinelli G, et al. Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterized of a new phlebovirus (Arabia virus). *Am J Trop Med Hyg.* 1988;38:433-9.
10. Eitrem R, Niklasson B, Weilan O. Sandfly fever among Swedish tourists. *Scand J Infect Dis.* 1991;23:451-7.
11. Schwarz TF, Jäger G, Gilch S, Pauli, C. Serosurvey and laboratory diagnosis of imported sandfly fever virus, serotype Toscana, infection in Germany. *Epidemiol Infect.* 1995;114:501-10.
12. Mendoza-Montero J, Gámez-Rueda MI, Navarro-Mari JM, De la Rosa-Fraile M, Oyonarte-Gómez S. Infections due to sandfly fever virus serotype Toscana in Spain. *Clin Infect Dis.* 1998;27:434-6.
13. Echevarría JM, De Ory F, Guisasola ME, Sánchez-Seco MP, Tenorio A, Lozano A, et al. Acute meningitis due to Toscana virus infection among patients from both the Spanish Mediterranean region and the region of Madrid. *J Clin Virol.* 2003;26:79-84.
14. Hemmersbach-Miller M, Parola P, Charrel RN, Durand JP, Brouqui P. Sandfly fever due to Toscana virus: an emerging infection in southern France. *Eur J Int Med.* 2004;15:316-7.
15. Braito A, Ciufolini MG, Pippi L, Corbisiero R, Fiorentini C, Gistri A, et al. Phlebotomus-transmitted Toscana virus: infections of the central nervous system. A seven-year experience in Tuscany. *Scand J Infect Dis.* 1998;30:505-8.
16. Braito A, Corbisiero R, Corradini S, Fiorentini C, Ciufolini MG. Toscana virus infections of the central nervous system in children: a report of 14 cases. *J Pediatrics.* 1998;132:144-8.
17. Sánchez-Seco MP, Echevarría JM, Hernández L, Estévez D, Navarro-Mari JM, Tenorio A. Detection and identification of Toscana and other phleboviruses by RT-nested-PCR assays with degenerated primers. *J Med Virol.* 2003;71:140-9.
18. Aransay AM, Ready PD, Morillas-Márquez F. Population differentiation of *Phlebotomus perniciosus* in Spain following post-glacial dispersal. *Heredit.* 2003;90:316-25.
19. 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;23:147-56.
20. Dauphin G, Zientara S, Zeller H, Murgue B. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2004;27:343-55.
21. Murgue B, Murri S, Triki H, Deubel V, Zeller HG. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;951:117-26.
22. Lozano A, Filipe A. Anticuerpos frente al virus West Nile y otros virus transmitidos por artrópodos en la población del Delta del Ebro. *Rev Esp Salud Pública.* 1998;72:245-50.
23. Gonzalez MT, Filipe AR. Antibodies to arboviruses in northwestern Spain. *Am J Trop Med Hyg.* 1977;4:792-7.
24. Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele B, et al. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science.* 1999;286:2333-7.
25. Fonseca DM, Keyghobadi N, Malcom CA, Mehmet C, Schafner F, Mogi M, et al. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science.* 2004;303:1535-8.
26. Center for Disease Control and Prevention. Epidemic/epizootic West Nile virus in the United States: guidelines for surveillance, prevention, and control. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2003.
27. Diamond MS, Shrestha B, Marri A, Mahan D, Ingle M. B cells and antibody play critical roles in the immediate defense of disseminated infection by West Nile encephalitis virus. *J Virol.* 2003;77:2578-86.
28. Marfin AA, Gubler DJ. West Nile encephalitis: an emerging disease in United States. *Clin Infect Dis.* 2001;33:1713-9.
29. Peterson LR, Marfin AA. West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann Intern Med.* 2002;137:173-9.
30. Weiss D, Carr D, Kellachan J, Tan C, Phillips M, Bresnitz E, et al. Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:654-8.
31. Valassina M, Valentini M, Pugliese A, Egisto P, Cusi MG. Serological survey of Toscana virus infection in a high-risk population in Italy. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10:483-4.
32. Navarro JM, Fernández-Roldán C, Pérez-Ruiz M, Sanbonmatsu S, De la Rosa M, Sánchez-Seco MP. Meningitis by Toscana virus in Spain: clinical description of 17 cases. *Med Clin (Barc).* 2004;122:420-2.
33. Nicoletti L, Verani P, Cacioli S, Ciufolini MG, Renzi A, Bartolozzi D, et al. Central nervous system involvement during infection by *Phlebovirus toscana* of residents in natural foci in central Italy (1977-1988). *Am J Trop Med Hyg.* 1991;45:429-34.
34. Dionisio D, Valassina M, Ciufolini MG, Vivarelli A, Esperti F, Cusi MG, et al. Encephalitis without meningitis due to sandfly fever virus serotype Toscana. *Clin Infect Dis.* 2001;32:1241-3.
35. Baldelli F, Ciufolini MG, Francisci D, Marchi A, Venturi G, Fiorentini C, et al. Unusual presentation of life-threatening Toscana virus meningoencephalitis. *Clin Infect Dis.* 2004;38:515-20.
36. Magurano F, Nicoletti L. Humoral response in Toscana virus acute neurologic disease investigated by viral-protein-specific immunoassays. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6:55-60.
37. Valassina M, Cusi MG, Valensin PE. Rapid identification of Toscana virus by nested PCR during an outbreak in the Siena area of Italy. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2500-2.
38. Schwarz TF, Jäger G, Gilch S, Nitschko H. Nested RT-PCR for detection of sandfly fever virus, serotype Toscana, in clinical specimens, with confirmation by nucleotide sequence analysis. *Res Virol.* 1995;146:355-62.
39. Lanciotti RS. Molecular amplification assays for the detection of flaviviruses. *Adv Virus Res.* 2003;61:67-99.
40. Soldateschi D, Dal Maso GM, Valassina M, Santini L, Bianchi S, Cusi MG. Laboratory diagnosis of Toscana virus infection by enzyme immunoassay with recombinant viral nucleoprotein. *J Clin Microbiol.* 1999;37:649-52.
41. Ciufolini MG, Fiorentini C, Di Bonito P, Mochi S, Giorgi C. Detection of Toscana virus-specific immunoglobulins G and M by an enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant viral nucleoprotein. *J Clin Microbiol.* 1999;37:2010-2.
42. Prince HE, Lape-Nixon M, Moore RJ, Hogrefe WR. Utility of the focus technologies West Nile virus immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assay for testing cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 2004;42:12-5.
43. Morrey JD, Smee DF, Sidwell RW, Tseng C. Identification of active antiviral compounds against a New York isolate of West Nile virus. *Antiviral Res.* 2002;55:107-16.
44. Pantelic L, Sivakumaran H, Urosevic N. Differential induction of antiviral effects against West Nile virus in primary mouse macrophages derived from flavivirus-susceptible and congenic resistant mice by alpha/beta interferon and poly (I-C). *J Virol.* 2005;79:1753-64.

NOTA

Los artículos publicados en la sección "Formación Médica Continuada" forman parte de grupos temáticos específicos (antibiograma, antimicrobianos, etc.). Una vez finalizada la publicación de cada tema, se irán presentando al Sistema Español de Acreditación de la Formación Médica Continuada (SEAFORMEC) para la obtención de créditos.

Una vez concedida la acreditación, esta se anunciará oportunamente en la Revista y se abrirá un periodo de inscripción gratuito para los socios de la SEIMC y suscriptores de la Revista, al cabo del cual se iniciará la evaluación, durante un mes, que se realizará a través de la web de Ediciones Doyma.

RELACIÓN DE SERIES ACREDITADAS:

"Avances en el tratamiento de la infección por el virus VIH"

Disponibile en: <http://www.doyma.es/eimc/formacion>

1 junio / 31 diciembre 2005

ANEXO 1. Infecciones por el virus de Toscana, el virus del Nilo occidental y otros arbovirus de interés en Europa

- 1. Con respecto a las arbovirosis, todas las siguientes afirmaciones son ciertas excepto:**
 - a) Suelen tener carácter estacional.
 - b) Suelen ser asintomáticas o de sintomatología leve.
 - c) El hombre suele ser huésped ocasional.
 - d) El hombre es un buen reservorio para muchas de ellas.
 - e) Sus vectores fundamentales son los artrópodos.
- 2. El término «arbovirus» se refiere a:**
 - a) La clasificación taxonómica en la que se engloba un grupo heterogéneo de virus transmitidos por artrópodos.
 - b) Un grupo numeroso de virus englobados en varios géneros taxonómicos y cuya característica común es ser transmitidos por artrópodos.
 - c) Un grupo de virus cuyo mecanismo de transmisión implica a un vector artrópodo, siendo el hombre el principal reservorio.
 - d) Un grupo de virus cuyo precursor es un virus de plantas que se adaptó a los artrópodos y luego a los vertebrados.
 - e) Ninguna respuesta es correcta.
- 3. En España, de las arbovirosis conocidas actualmente la más frecuente es:**
 - a) Infección por el VWN.
 - b) Infección por el VTOS.
 - c) Encefalitis por mordedura de garrapata.
 - d) Infección por el virus Chikungunya.
 - e) Fiebre del Valle del Rift.
- 4. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones con respecto a la infección por el VTOS es falsa?**
 - a) Es mayoritariamente asintomática.
 - b) El principal proceso clínico asociado a su infección sintomática es la meningitis linfocitaria.
 - c) La infección clínicamente manifiesta es más frecuente en viajeros procedentes de zonas no endémicas que visitan regiones de alta endemicidad.
 - d) La evolución general de la meningitis por el VTOS es hacia la curación sin secuelas.
 - e) La meningitis es más frecuente en niños y ancianos.
- 5. A su regreso a su país de origen tras una estancia en el sur de España, un turista centroeuropeo presenta sintomatología compatible con infección por el VTOS.**
 - a) Es preciso estudiar la presencia de IgM e intentar la detección directa de VTOS en muestras tomadas al inicio del período febril.
 - b) Se debe intentar cultivo celular y detección directa en muestras tomadas entre 10 y 15 días tras el inicio de la fiebre.
 - c) Se ensayará una RT-PCR diseñada basándose, únicamente, en las secuencias de la cepa de referencia en muestras de LCR tomadas en los primeros días tras el inicio de la fiebre.
 - d) No importa el momento de toma de la muestra y hay que hacerle un estudio completo por cultivo celular, serología y diagnóstico molecular.
 - e) Es irrelevante el lugar donde el turista haya estado viajando para orientar el diagnóstico.
- 6. ¿Cuál de las consideraciones que se exponen a continuación, referidas al diagnóstico de la infección por el VTOS no es cierta?**
 - a) El virus puede aislarse a partir de LCR en células Vero.
 - b) El aislamiento del virus en faringe y/o heces puede orientar el diagnóstico.
 - c) La detección de IgM en suero por técnicas de ELISA puede orientar el diagnóstico.
 - d) La RT-PCR en LCR es más sensible que el cultivo.
 - e) La seroconversión entre suero agudo y convaleciente por técnica de neutralización de placas de crecimiento del virus confirma el diagnóstico.
- 7. Ante un cuadro clínico compatible, los siguientes criterios diagnósticos se consideran confirmatorios de síndrome neurológico por el VWN, excepto:**
 - a) Detección de IgG frente al VWN a título alto ($> 1/256$) por reacción de fijación de complemento en suero único.
 - b) RT-PCR positiva en LCR.
 - c) Aislamiento del VWN en LCR.
 - d) RT-PCR positiva en suero.
 - e) Seroconversión de anticuerpos neutralizantes del crecimiento del VWN entre sueros de fase aguda y convaleciente.
- 8. ¿Cuál de las consideraciones que se exponen a continuación con respecto al síndrome neurológico por el VWN no es cierta?**
 - a) Es más frecuente en adultos.
 - b) Es más frecuente en inmunodeprimidos.
 - c) Se da en uno de cada 150-300 casos de infección aguda por el virus.
 - d) La respuesta de anticuerpos es fundamental en la evolución de la enfermedad.
 - e) La RM de cerebro es orientativa en el 30% de los casos.
- 9. ¿Qué afirmación referente al ciclo biológico del VWN es correcta?**
 - a) Los artrópodos (garrapatas) son los vectores responsables de la transmisión mayoritaria.
 - b) Los équidos son los reservorios principales.
 - c) El virus se mantiene en los mosquitos y pasa generación tras generación por transmisión transovárica eficazmente, y los vertebrados son huéspedes accidentales y finales.
 - d) El hombre es un huésped final infectado por el virus cuando, de forma accidental, irrumpe en el ciclo natural del mismo que se mantiene entre vector/mosquito y reservorio/ave.
 - e) Un viajero infectado es considerado de alto riesgo ante la posibilidad del establecimiento de nuevos ciclos debido a los niveles de viremia altos y prolongados que se producen en el ser humano.
- 10. La vigilancia de la posible circulación del VWN en España requeriría:**
 - a) Estudio de cuadros neurológicos de posible etiología viral que se produzcan entre los meses de octubre y abril.
 - b) Observación de mortalidad en córvidos.
 - c) Estudio de casos de encefalitis en viajeros procedentes de áreas de riesgo.
 - d) Estudio de casos de infección neurológica compatibles con infección por el VWN o estudio de vectores durante la temporada de actividad de los mismos.
 - e) No se requiere vigilancia puesto que no tenemos vectores adecuados y las condiciones ecológicas del país impiden la circulación del virus.