



Departamento de Biologia

Virologia

WEST NILE VIRUS: UM VÍRUS EMERGENTE



Trabalho realizado por:

Ivan Rodrigo N.º 17683

Miguel Roque N.º 17568

Patrícia Barros N.º 16143

Évora, Janeiro de 2005

Índice

Introdução	3
Classificação Taxonómica	4
Biologia Molecular	
Características Gerais	4
Replicação	5
Ecologia	
Ciclo de Vida e Transmissão	6
Vectores	8
Distribuição e Dinâmica	10
Saúde Pública	
Surto mais Importantes	12
Sintomatologia	13
Diagnóstico	15
Prevenção	16
Vacinas	17
Referências	19

W.N.V. Um vírus emergente

Introdução

No âmbito da cadeira de virologia foi-nos proposta a execução de um trabalho monográfico sobre um conteúdo de relevo em virologia, por exemplo um vírus específico ou um tipo de patologia com causa viral.

O nosso trabalho incide sobre um vírus denominado *West Nile Virus* (WNV). Este vírus pertence a um grupo artificial, os Arbovírus, aspecto este de grande importância na caracterização do seu ciclo de vida. Segundo o sistema de Baltimore é um membro da família Flaviviridae, do género *Flavivirus*. Ao longo do trabalho optámos por utilizar o nome não traduzido do vírus, *West Nile*, visto que toda a pesquisa bibliográfica efectuada usava esta denominação e é assim que ele é reconhecido pela comunidade científica.

A escolha deste vírus deveu-se não a sua importância histórica, dado que não foi causador de epidemias nem de grandes problemas de saúde pública no passado, mas sim devido aos seus recentes surtos. Os surtos de WNV, desde o seu isolamento em 1937 no Uganda (Petersen *et al.*, 2001), estiveram contidos no Médio Oriente e em África até aos anos 90. No entanto foram os recentes surtos na América do Norte e na Europa que atraíram a atenção do meio científico para este vírus. Tal deve-se ao facto de o capital e os meios necessários à investigação se encontrarem “no mundo ocidental” e da atenção dada a determinada patologia está relacionada, principalmente, com a importância dessa patologia localmente e não globalmente.

A forma como o WNV foi transportado para a América é ainda uma incógnita, muito embora muitos estudos apontem para as alterações climáticas como um factor importante na dispersão dos seus vectores. Este foi, também, um dos factores que conduziu ao nosso interesse pelo vírus. Todos estes estudos permitem efectuar previsões acerca da dinâmica do vírus e dos impactos que este pode ter nas populações humanas, algo com especial interesse nos tempos que correm, possibilitando, desta forma, a tomada de medidas preventivas e o evitar de epidemias.

É, então, sobre estas questões recentes e sobre alguns aspectos mais teóricos do vírus que nos iremos debruçar ao longo deste trabalho.

Classificação Taxonómica

O WNV pertence, como já foi referido, ao grupo artificial dos Arbovírus, um grupo sem valor taxonómico, uma vez que tem em conta, apenas, uma característica, sem considerar outras relações. Neste caso, os vírus incluídos neste grupo possuem, obrigatoriamente, no seu ciclo de vida, artrópodes. A maioria dos Arbovírus utiliza no seu ciclo de transmissão insectos como vectores e vertebrados como hospedeiros (Flint *et al.*, 2004).

Em virologia, o sistema de classificação taxonómica usado mais frequentemente é o sistema de Baltimore que é baseado no sistema genético de cada vírus e descreve as relações obrigatórias entre o genoma viral e o seu RNA mensageiro (RNA_m) (Flint *et al.*, 2004). Segundo este sistema, o WNV pertence à família Flaviviridae e ao género *Flavivirus* (Petersen *et al.*, 2001 e ¹³).

A família Flaviviridae é constituída por cerca de setenta membros, treze dos quais causam patologias nos humanos, como exemplos temos a encefalite japonesa (JE), a dengue, a encefalite de St. Louis (SLE) e a Febre Amarela. No entanto, esta família, apenas, se encontra definida pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) desta forma, desde 1984. Anteriormente a esta data, os vírus que constituem esta família encontravam-se classificados, devido à sua proximidade, juntamente com os Togavírus na família Togaviridae (¹⁰).

Biologia molecular

Características

Os Flavivírus têm um núcleo icosaédrico de diâmetro entre os 30 a 35 nm, composto por múltiplas cópias de uma proteína da cápside com 12 kDa. A cápside encerra uma única cadeia de RNA positivo, sendo esta linear e infecciosa (¹⁰), de aproximadamente 12000 nucleótidos.

Os vírus desta família apresentam a cápside encerrada num envelope derivado da célula hospedeira, que foi modificado pela inserção de duas glicoproteínas integrais de membrana, as proteínas E (53 kDa) e prM (18-20 kDa) (fig. 1). A proteína “E” é um receptor de membrana de grande importância, e com destaque também na fusão de membranas (Lanciotti *et al.*, 1999), sendo a proteína estrutural mais importante imunologicamente, uma vez que é uma hemaglutinina viral e media a ligação ao

hospedeiro. É, também, esta proteína que tem a função de extrair a maior parte dos anticorpos neutralizantes do vírus (Petersen *et al.*, 2001 e ¹³).

Relativamente aos viriões, estes são esféricos, envelopados (¹⁰) e têm entre 45 a 50 nm de diâmetro (Petersen *et al.*, 2001 e ¹³). Na maturação tardia do vírus, a proteína prM é clivada por uma protease celular, passando a ser uma proteína M (8 kDa), que é, então, inserida no virião maturo, constituindo uma componente importante do envelope lipídico (Lanciotti *et al.*, 1999).

Os genes estruturais encontram-se localizados na extremidade 5' da cadeia de RNA. Esta extremidade apresenta um *cap* de nucleótidos metilados e a terminação 3' não apresenta uma cauda poli(A) (¹⁰). O genoma codifica, ainda, para sete proteínas não estruturais (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5) que encobrem a maquinaria intracelular de replicação do vírus (Petersen *et al.*, 2001 e ¹³). Estas proteínas não estruturais são, na sua maioria, polimerases ou proteases que trabalham individualmente ou associadas (Lanciotti *et al.*, 1999).

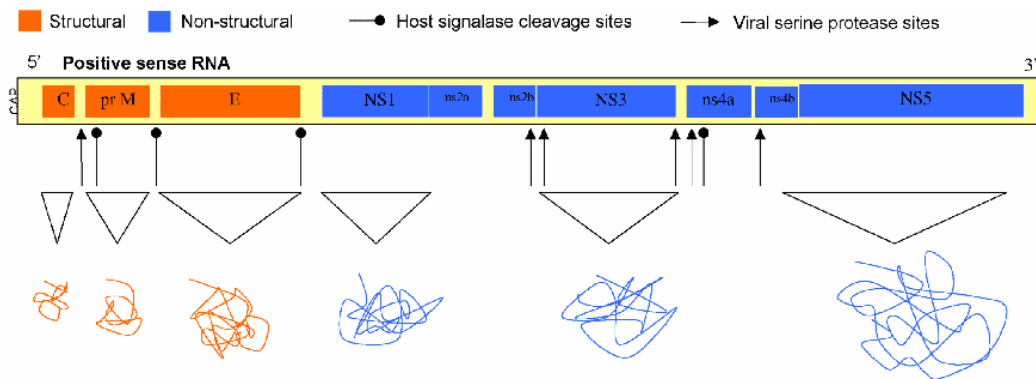


Figura 1: Esquema representativo do genoma de um Flavivírus (Adaptado de ¹⁰).

Replicação

A replicação do genoma viral ocorre no citoplasma e demora, aproximadamente, 20 a 30 horas. A cadeia complementar negativa de RNA é sintetizada por proteínas não estruturais e é, depois, usada como molde para a síntese da progenia. A montagem ocorre durante o *budding* (fig. 2) e ocorre preferencialmente em vacúolos citoplasmáticos e não na superfície celular como ocorre com outros Arbovírus

aparentados, como é o caso do Togavírus. A liberação dos viriões ocorre com a lise celular ⁽¹¹⁾.

O genoma viral é traduzido na sua totalidade como uma única poliproteína que depois é clivada em proteínas maduras.

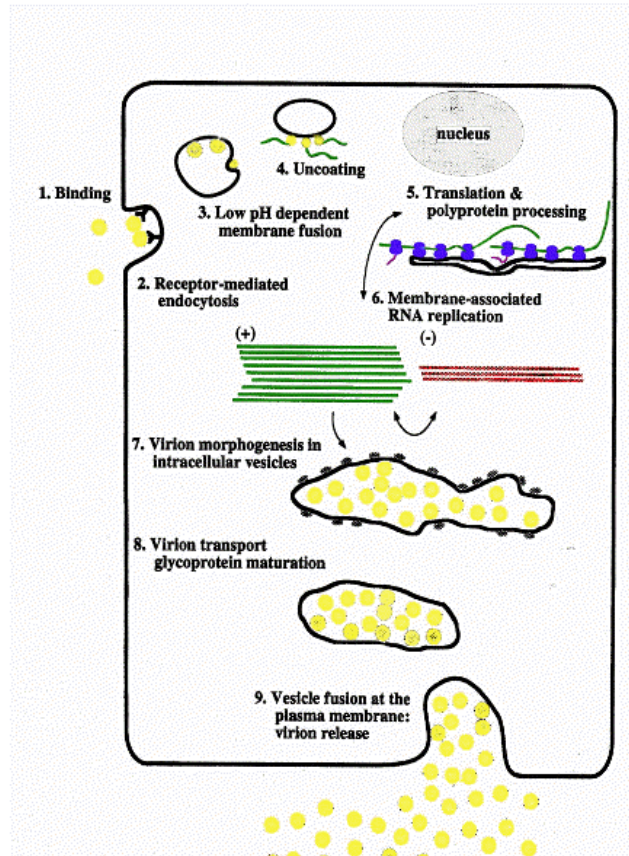


Figura 2: Esquema da replicação de um Flavivírus (Adaptado de ¹¹).

Ecologia

Ciclo de vida e Transmissão

Pela figura 3 podemos verificar que o vírus utiliza como hospedeiros reservatório vários grupos de aves, temos como exemplo, os canários e os corvos. No entanto, algumas aves, como os corvos, são pouco tolerantes ao vírus, acabando por morrer ⁽⁹⁾.

Como vectores, o vírus apresenta inúmeras espécies de mosquitos, entre elas a espécie *Culex pipiens* e *Aedes albopictus*.

Quando um mosquito se alimenta de um animal infectado, o vírus entra em contacto com a faringe, infectando-a. No entanto, um mosquito com uma infecção limitada à faringe não pode transmitir o vírus, é necessário, para tal, que este se emancipe da faringe, através do corpo do mosquito, até às glândulas salivares ⁽⁹⁾. Ou seja, o facto do mosquito transportar, só por si, o vírus no seu corpo não significa que seja uma ameaça para a saúde pública.

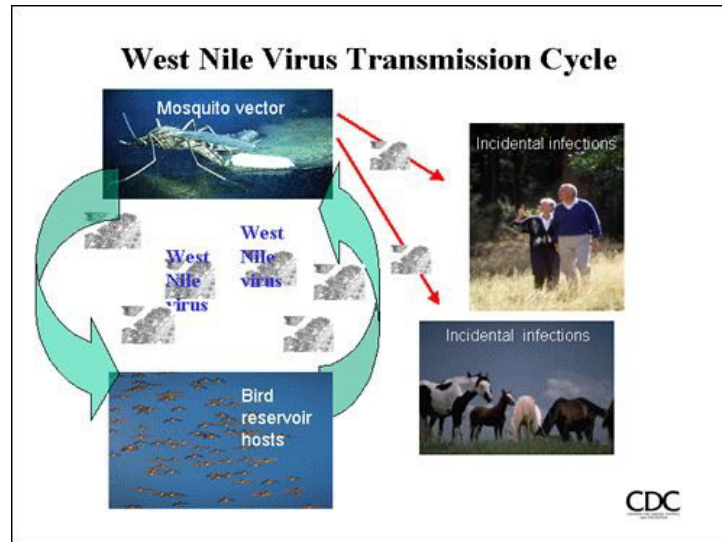


Figura 3: Esquema do ciclo de vida de *West Nile Virus* (WNV) (Retirado de ¹¹).

Ocasionalmente, espécies de mosquitos, que não são vetores naturais de WNV, uma vez que não se alimentam, em geral, dos seus hospedeiros reservatório, podem-se alimentar de um indivíduo infectado e, em seguida, transmitir a infecção às espécies que tipicamente lhes servem de alimento (Flint *et al.*, 2004). Neste tipo de transmissão, a chamada infecção acidental, a picada de um insecto num humano infectado e, posteriormente, num outro não infectado, não conduz, geralmente, à infecção do segundo indivíduo. Tal, pode ser explicado pela carga viral que os seres humanos, normalmente, apresentam quando infectados por WNV, isto é, o número de vírus é, geralmente, insuficiente para que uma picada do mosquito infecte outro indivíduo ⁽⁹⁾.

Os humanos e os equídeos constituem hospedeiros finais (*dead-end hosts*) de WNV, contribuindo, assim, pouco para a dispersão da infecção por via natural, contudo, podem ser alvo de sérias consequências ao nível da saúde (Flint *et al.*, 2004).

Vectores

Existem inúmeras espécies que são potencialmente transmissoras deste vírus, só nos EUA podemos encontrar cerca de 43 espécies identificadas (⁸). Os géneros *Culex* e *Aedes*, pertencentes à família Culicidae, são dois dos mais conhecidos e estudados (Borror *et al.*, 1970).

Muitos destes vectores não são transmissores exclusivos de WNV, transmitindo outros vírus com grande impacto na saúde pública. Um bom exemplo são os mosquitos do género *Aedes* que, também, transmitem a dengue, uma das doenças virais humanas mais velozes e de maior dispersão (Brusca & Brusca, 2003).

As espécies que se seguem são quatro dos vectores de WNV mais comuns, a sua dispersão e ecologia está descrita para a realidade americana, uma vez que se trata do país que, hoje em dia, mais se empenha no estudo destes vectores.

Culex pipiens: Podem ser encontrados ao longo de todo o Este e Centro dos EUA, com excepção do estado da Florida. Estes mosquitos “caseiros” são comuns em locais urbanos e suburbanos, assim como em algumas zonas rurais. Os seus locais de criação incluem águas paradas e poluídas, fossas, efluentes de esgotos e outros locais eutrofizados ou poluídos com lixo orgânico (⁸).

Culex quinquefasciatus (fig. 4): Geralmente só os encontramos activos durante os meses mais quentes mas, também, é usual alimentarem-se de sangue humano após o anoitecer sendo, no entanto, os ataques a aves mais frequentes. É típico colocarem, após cada refeição de sangue, entre 140 a 340 ovos. Estes mosquitos podem ser encontrados nas mesmas áreas que o *Culex pipiens* (⁸).



Figura 4: Fotografia de uma espécie vector do WNV, *Culex quinquefasciatus* (Retirada de ⁸).

Culex restuans: Tem uma distribuição que se estende desde o Canadá mais interior ao Sul do México, sendo muito comum no Este e Centro do EUA. As fêmeas entram em hibernação no Outono em caves, zonas subterrâneas e outros locais semelhantes, hibernando durante todo o Inverno. Em Abril dão início às posturas, encontrando-se maioritariamente a Sul de Nova Jersey, por volta de Maio movem-se mais para norte, sendo o pico populacional atingido em Julho ⁽⁸⁾.

Aedes albopictus: Este mosquito, de nome comum Tigre Asiático, foi descoberto em Houston no Texas em 1987, tendo-se espalhado para 678 condados em 25 estados. Estes mosquitos são possíveis vectores de 22 tipos de Arbovírus, incluindo alguns de grande importância em questões de saúde pública. Os seus ovos podem sobreviver a Invernos muito frios, tornando-os, assim, potenciais transmissores de doenças ao longo de todo o EUA ⁽⁸⁾.

Aedes vexans: São uma das espécies com maior dispersão em todo o mundo. A sua distribuição estende-se, com excepção para o Hawái, desde as regiões Neoárticas e Palearticas, à costa Este africana, até às regiões orientais. Os adultos voam grandes distâncias e são atraídos pela luz. As fêmeas são picadoras persistentes e mais activas no início da noite, efectuando as posturas em pequenas depressões do terreno, susceptíveis de inundar ⁽⁸⁾.

O estudo de vectores transmissores de doenças e do seu ciclo de vida é de extrema importância, visto que todos os anos se gastam biliões de dólares no controlo de insectos, na prevenção e tratamento das patologias associadas (Brusca & Brusca, 2003).

No que é relativo à investigação de vectores de WNV, esta tem sido alvo de maior empenho por parte do *U. S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases* que, em conjunto, com o *Federal Centers for Disease Control and Prevention* têm produzido resultados bastante importantes. A investigação que têm levado a cabo consiste em experiências manipulativas, de forma a identificarem potenciais vectores ⁽⁹⁾. Assim, para determinarem que ninhadas de mosquitos são portadores competentes, os cientistas permitem que os mosquitos se alimentem de aves infectadas e após, o tempo médio necessário para o vírus se mover para as glândulas salivares do mosquito (normalmente, duas semanas), fornecem-lhes aves não infectadas. A posterior

identificação das aves infectadas possibilita o reconhecimento dos vectores eficientes (9).

Distribuição e Dinâmica

O vírus foi isolado pela primeira vez em 1937 a Oeste do Nilo, no distrito do Uganda (Petersen *et al.*, 2001). Os primeiros surtos descritos ocorreram em Israel e em África, tendo sido, mais recentemente, relatados surtos na Europa e na América do Norte (Petersen *et al.*, 2001).

Hoje-em-dia, o vírus encontra-se disperso desde o Pacífico ao Atlântico, estando, também, presente em algumas províncias canadianas (fig. 5) (Flint *et al.*, 2004).

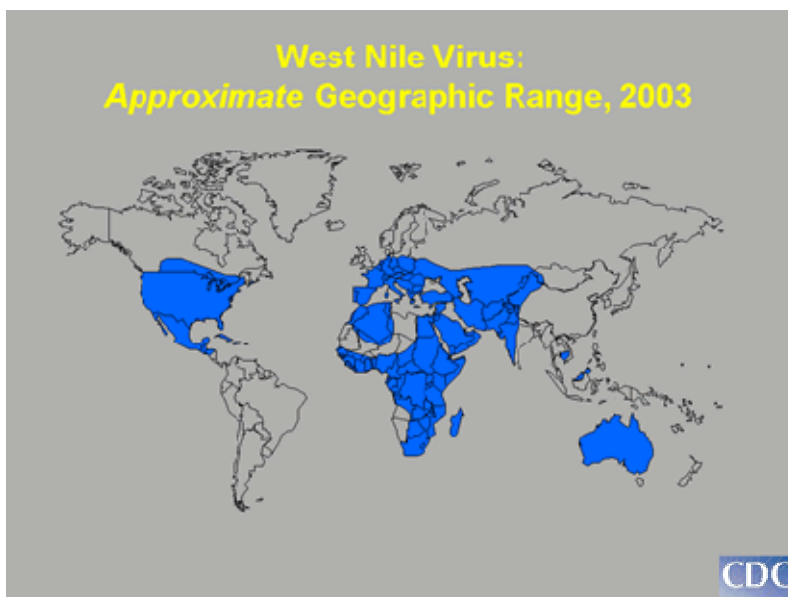


Figura 5: Distribuição geográfica do WNV no ano de 2003 (Retirado de ¹²).

É devido aos novos surtos, dos quais temos como exemplo principal os EUA. (fig. 6), que o WNV é considerado um vírus emergente. As infecções emergentes constituem manifestações da expansão dos hospedeiros do vírus, nos quais não era previsível *a priori* a sua infecção e num aumento da transmissão (Flint *et al.*, 2004).

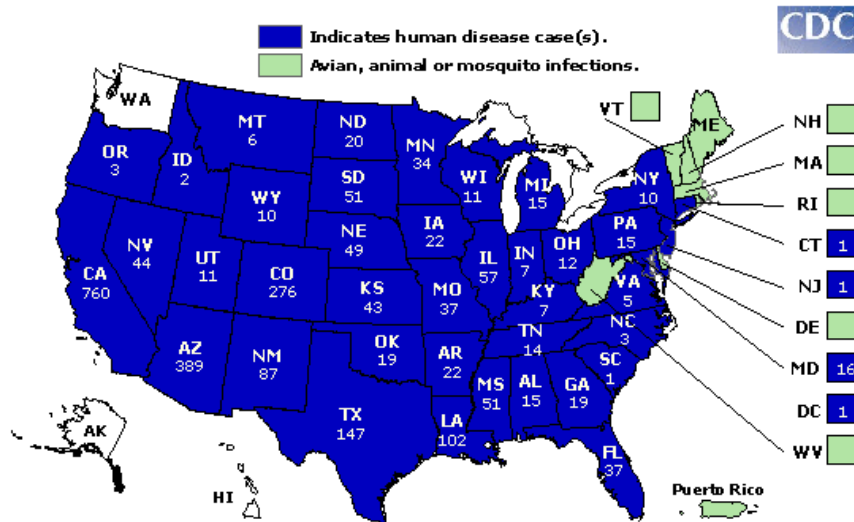


Figura 6: Actividade do WNV nos EUA em 2004 e casos relatados (Adaptado de ¹³).

A forma como o WNV surgiu na América é ainda desconhecida (Epstein & Defilippo, 2001), no entanto algumas explicações relacionadas com o ciclo deste vírus têm sido de grande utilidade. Uma das explicações plausíveis está relacionada com as aves migratórias que são potenciais transportadores do vírus (Epstein & Defilippo, 2001). No entanto, os cientistas identificaram já vários mosquitos do género *Culex* responsáveis por transmitir o vírus entre as aves, mas que, muito raramente, picam humanos (⁹), o que sugere que devemos ter em conta vários factores e que há ainda muitos estudos a realizar para melhor entender a dinâmica deste vírus.

Há explicações que apontam noutra sentida, no qual a via de amplificação do WNV seria os vectores invertebrados, os mosquitos. Um facto que corrobora esta hipótese é o aumento da dispersão dos mosquitos dos géneros *Aedes* e *Culex*, e de outros vectores de doenças tropicais com o aquecimento global (Brusca & Brusca, 2003). Um mosquito recentemente introduzido *Ochlerotatus japonicus* encontra-se em expansão na costa Este dos EUA e é de especial preocupação, uma vez que se trata de um eficiente transmissor do WNV em laboratório e foi encontrado na natureza já infectado (⁹).

Como alguns estudos têm revelado as alterações climáticas estão fortemente correlacionadas com os surtos recentes de WNV e de SLE, um Arbovírus que partilha os mesmos vectores de WNV (Epstein & Defilippo, 2001). Períodos longos de seca, especialmente, na Primavera e no início do Verão revelam estar relacionados com os

surtos urbanos de SLE e com os recentes surtos severos de WNV na Europa e EUA (Epstein & Defilippo, 2001). Aliado a determinadas condições climáticas outros factores podem, ainda, aumentar a dispersão e emergência deste vírus, como é o caso de uma higiene desadequada e a existência de ribeiros de águas paradas na proximidade de zonas urbanas, aumentando, também, a vulnerabilidade em relação a surtos de Arbovírus tipicamente urbanos (Epstein & Defilippo, 2001). No entanto, os dados moleculares indicam uma proximidade elevada entre o WNV isolado em Nova Iorque e o isolado em Israel, o que sugere que é esta a origem do vírus que se espalhou pela América do Norte (Lanciotti *et al.*, 1999 e Flint *et al.*, 2004).

Saúde Pública

Surtos mais Importantes

Desde o seu isolamento, no Uganda em 1937, que não tinham ocorrido muitos surtos de WNV (Petersen *et al.*, 2001). No entanto ocorreram alguns surtos importantes de WNV em Israel e na África do Sul. O primeiro surto, em Israel, ocorreu entre 1951 e 1954 e, novamente, em 1957. O surto na África do Sul ocorreu em 1974 (Petersen *et al.*, 2001).

No entanto, o que designa este vírus de emergente são os casos mais recentes desde os anos 90, visto que marca a entrada do vírus no mundo ocidental. Segue-se uma descrição dos casos mais graves dos últimos anos e as circunstâncias em que se processaram.

Um surto de WNV significativo ocorreu em 1996, em duas zonas da Roménia, o Vale do Danúbio e em Bucareste. Este episódio, onde centenas de pessoas sofreram doenças do foro neurológico que conduziram a 17 fatalidades, ocorreu entre os meses de Julho e Outubro, coincidindo com uma seca prolongada. Os casos humanos em Bucareste estiveram concentrados em bairros situados sobre um velho sistema de esgoto, onde se encontravam em abundância *C. pipiens* (vector do WNV) em reprodução (Epstein & Defilippo, 2001).

Os casos de WNV de 1999 em Nova Iorque ocorreram, também, no seguimento de um período de seca alargado que se estendeu desde a Primavera até ao final do Verão. As mortes de aves por WNV começaram em Julho e os casos humanos, dos

quais 59 indivíduos desenvolveram meningoencefalites e 7 morreram, apareceram em Agosto. Muitos dos sobreviventes ficaram com sequelas (Epstein & Defilippo, 2001).

Um terceiro surto de WNV ocorreu na Rússia no Verão de 1999, novamente, a seguir a uma seca. Esta infecção resultou no internamento de 826 indivíduos, tendo 84 desenvolvido meningoencefalite e 40 morrido (Epstein & Defilippo, 2001).

Sintomatologia

A maioria dos humanos infectados com o WNV não apresenta sintomas de doença. No entanto, uma pequena proporção, cerca de 20%, desenvolve sintomas moderados que incluem febre, dor de cabeça, cansaço, dores em todo o corpo, ocasionalmente, erupções cutâneas e intumescimento (aumento de volume) das glândulas linfáticas, a chamada febre do Nilo Ocidental (fig. 7). A extensão e severidade dos sintomas apresentados pelos indivíduos infectados é assim, muito variável (^{13, 17, 18}).

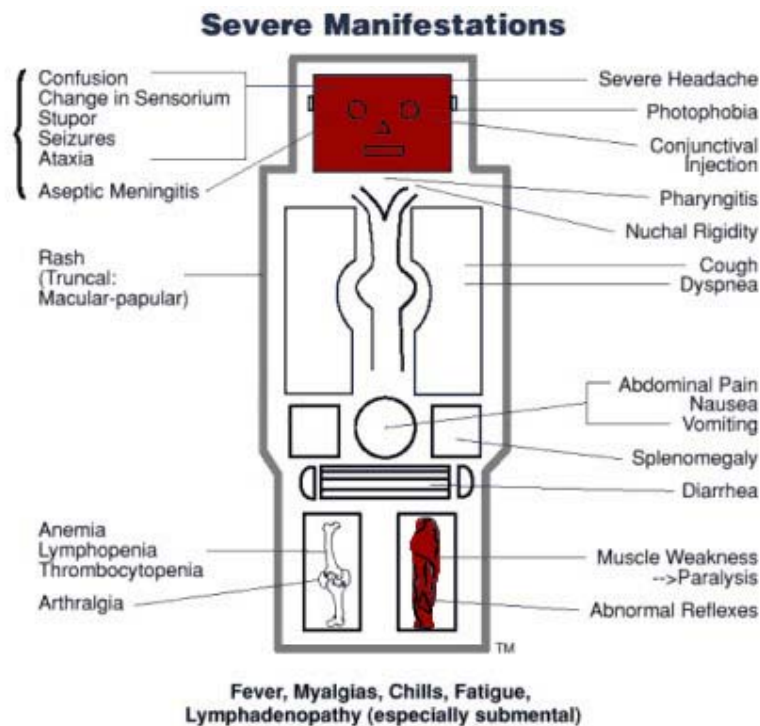


Figura 7: Esquema representativo dos sintomas que o WNV pode provocar em humanos (Retirado de ¹¹).

Aproximadamente, 1 em cada 150 das pessoas infectadas desenvolvem doenças mais graves, neuroinvasivas, como meningites (inflamação de uma das membranas que revestem o cérebro ou a medula espinal), encefalites (inflamação cerebral), meningoencefalites (inflamação cerebral e das membranas que o revestem) ou paralisias flácidas agudas (síndrome semelhante à poliomielite que pode resultar na perda de função de um ou mais membros). Embora o desenvolvimento deste tipo de doenças seja, em certa medida, aleatório, existe uma maior probabilidade de ocorrer em indivíduos infectados com idades superiores a 50 anos ou com sistemas imunitários fragilizados, como é o caso de indivíduos que sofrem de doenças crônicas, como o cancro, a diabetes, o alcoolismo ou doenças cardíacas, ou indivíduos que necessitam de tratamento médico, de que são exemplo as pessoas que tenham realizado transplantes ou façam quimioterapia^(13, 17, 18).

Os sintomas das doenças neuroinvasivas causadas pelo WNV incluem, geralmente, o estabelecimento rápido de fortes dores de cabeça, febres elevadas, náuseas e vômitos, dificuldade em engolir, rigidez do pescoço, falta de coordenação e resistência muscular, estados de confusão e desorientação, perdas de consciência, sonolência, letargia, tremores, convulsões, ou mesmo, coma e paralisia. Também, desordens e degenerações musculares, turvamento e deterioração da visão, assim como sintomas da doença de Parkinson têm sido observados em pacientes infectados. Estas condições podem, em casos extremos, conduzir à morte, embora esteja estimado que apenas acontece em 1‰ dos casos^(13, 17, 18).

O período de incubação das doenças provocadas pela infecção por WNV é de cerca de 2 a 15 dias. A sintomatologia tem, geralmente, um período de duração de apenas alguns dias, porém alguns indivíduos apresentaram-nos durante várias semanas. Relativamente ao período de duração dos sintomas de encefalite ou meningite, estes podem ser observados ao longo de várias semanas, sendo os possíveis efeitos neurológicos permanentes⁽¹³⁾.

Como o WNV é um vírus emergente, os seus efeitos a longo termo são ainda pouco conhecidos. Alguns estudos revelaram que alguns indivíduos com sintomas e efeitos graves recuperaram completamente, enquanto que outros têm problemas de saúde prolongados que envolvem efeitos físicos (fraqueza muscular, paralisia, fadiga e dores de cabeça), cognitivos (confusão, depressão, falta de concentração e perda de memória) e efeitos funcionais (dificuldade em desempenhar as tarefas do dia-a-dia)⁽¹⁷⁾.

Diagnóstico

O agente causador dos surtos infecciosos que surgiram nos Estados Unidos, em 1999, em humanos e aves, não demorou muito a ser identificado como um vírus da família Flaviviridae, uma vez que praticamente todos os testes disponíveis identificavam Flavivírus. A partir deste momento, o processo de sequenciação genética para identificar positivamente o WNV foi bem mais demorado e complexo, existindo no início, apenas, alguns laboratórios capazes de o identificar. Assim tentaram-se desenvolver testes que identificassem especificamente o WNV sem que ocorressem reacções-cruzadas com vírus da mesma família (⁹), uma vez que estes possuem uma relação antigénica muito próxima (Petersen *et al.*, 2001 e ¹⁷), e que tornassem mais fácil o controlo da distribuição do vírus. Hoje-em-dia já existem dois testes deste tipo, um que identifica proteínas virais específicas e outro que pesquisa ácidos nucleicos. O primeiro teste, denominado *immunohistochemistry test*, introduz anticorpos numa amostra tecidual que se suspeita estar infectada com o vírus, se este estiver presente os anticorpos ligam-se a proteínas do vírus através de uma reacção enzimática. Esta reacção torna-se visível após a introdução de um segundo anticorpo ligado a uma enzima que define as condições para a adição de um químico que altera a sua coloração quando as proteínas do vírus estão presentes (⁹).

O outro teste, o que pesquisa a existência de ácidos nucleicos, é a hibridização *in situ* que consiste na introdução de um *primer* específico para o material genético de WNV que se encontra ligado a uma enzima, que por sua vez, na presença de outro químico produz uma reacção visível através da mudança de cor (⁹).

Ambos os testes possuem limitações, a hibridização *in situ* é um teste muito demorado e por isso pouco utilizado, enquanto que o *immunohistochemistry test* é um teste rápido e de fácil aplicação, mas a obtenção dos anticorpos necessários é difícil. Muitas vezes, é necessário recorrer à produção de anticorpos monoclonais, por laboratórios especializados, que não têm a desvantagem de alguns anticorpos de produzir reacções cruzadas (⁹).

O diagnóstico de uma infecção provocada pelo WNV inicia-se pela procura de sintomas (ver sintomatologia) causados pelo vírus. Se existir a suspeita que o paciente se encontra infectado com WNV, pela existência de vários sintomas típicos, é realizada, para confirmar o diagnóstico, uma análise sanguínea. As amostras de sangue são testadas quanto à presença de anticorpos de WNV, através de dois tipos de testes, os

front-line tests, que permitem modificar e ajustar tratamentos e terapias aos indivíduos infectados, e os testes de confirmação, que providencia aos investigadores e responsáveis de saúde pública informações importantes acerca de WNV, como a reincidência do vírus, a actualização da sua distribuição geográfica, novas formas de transmissão e quem são os indivíduos com uma maior probabilidade de possuir efeitos de saúde mais sérios (¹⁷).

Existem vários tipos de testes *front-line*, entre eles o teste da ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e o teste da inibição da hemaglutinação. Relativamente ao teste da ELISA existem dois tipos que podem ser utilizados, um que utiliza a imunoglobulina IgM e outro a imunoglobulina IgG. O teste da ELISA que utiliza a IgM acelera a obtenção de resultados, quando estes são positivos, uma vez que nem sempre requer um segundo teste após a primeira amostra se mostrar positiva (¹⁷).

Os testes de confirmação são, geralmente, realizados em casos iniciais num determinado local ou em indivíduos que viagem para áreas, onde os testes *front-line* forneceram resultados positivos devido, provavelmente, a reacções cruzadas com membros da família de WNV, os Flavivírus. Uma vez comprovada a acção de WNV numa determinada área e a ocorrência de infecções humanas, não é mais necessário a realização de testes de confirmação para estes casos (¹⁷).

Tentativas de isolar o vírus do sangue de pacientes com encefalite provocada por Flavivírus têm-se demonstrado infrutíferas, dado que a virémia é transiente e a concentração viral é baixa. Ocasionalmente conseguiu-se isolar o vírus a partir do fluido cerebrospinal de indivíduos que ainda não tinham produzido anticorpos e que acabaram por morrer e a partir do tecido cerebral *postmortem*. Também, o ácido ribonucleico viral tem sido detectado, ocasionalmente, no fluido cerebrospinal através de RT-PCR, sendo que para o WNV, o PCR se mostrou mais útil (Solomon, 2004).

Prevenção

Ainda não estão disponíveis vacinas, embora existam muitas companhias a trabalhar em prole de uma vacina, de forma que a melhor arma que possuímos contra o vírus, actualmente, é a prevenção. Em relação à prevenção esta pode ser feita a duas escalas, a individual, que é importante quando o indivíduo está potencialmente exposto ao agente infeccioso e a escala global que é tarefa dos governos.

Dentro da prevenção individual podemos focar algumas regras básicas:

- Drenagem de águas paradas em redor da habitação, visto que é nestes locais que os mosquitos colocam as suas larvas e logo é um potencial local de prevalência do vírus;
- Limitar a actividade nocturna, visto que os mosquitos, que são os principais vectores do WNV, têm aí o seu pico de actividade;
- Uso de repelentes para insectos;
- O uso de roupa que diminua a exposição do corpo também é importante.

Estes conselhos são especialmente importantes em zonas de prevalência dos mosquitos vectores do WNV (¹⁴).

Existem no entanto medidas importantes de prevenção a uma escala global, que incluem a procura de vacinas e programas de controlo de insectos transportadores de Arbovírus. Estes programas incluem também a vigilância da actividade de WNV nos insectos, nas aves, em equídeos e em outros mamíferos, com especial atenção para os casos em humanos (¹³). Devem, ainda, estar incluídas nestas medidas de prevenção, a implementação de políticas de controlo das populações de mosquitos quando necessário e o alerta dos habitantes de áreas onde é detectada actividade de vectores do vírus (¹³).

Nos EUA já foram levados a cabo estudos preditivos sobre a possível incidência de WNV em humanos com base em dados de mortalidade de aves causada por este vírus. No entanto devido à falta de conhecimento no campo da ecologia e do impacto em termos de saúde pública do WNV, este vírus continuará a ser um desafio para a saúde pública pelo menos durante a próxima década (¹³).

Vacinas

Ainda não existe uma vacina profilática que proteja o Homem contra o WNV, no entanto o *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAD) é um dos principais institutos que investiga e procura uma vacina (¹⁰). Este instituto defende o uso de várias abordagens na procura de uma vacina, desenvolvendo vacinas quiméricas, vacinas de DNA e vacinas que contêm um cocktail de proteínas de WNV (¹⁰).

Os cientistas do NIAD criaram uma vacina contra o WNV que já foi testada em macacos *Rhesus*. Esta vacina usa um vírus vivo, embora enfraquecido. Para criar esta

vacina os cientistas usaram um vírus relacionado com o WNV, o Dengue tipo 4, do qual retiraram algumas proteínas da cápsula, substituindo-as pelas correspondentes do WNV. Para assegurar a segurança do novo vírus quimérico este foi enfraquecido através da eliminação de parte do seu RNA. Após esta deleção, o vírus tornou-se menos infeccioso, pois tinha uma capacidade de replicação menor, sendo, no entanto, imunogénico ⁽¹⁵⁾. De seguida, os cientistas procederam a testes de forma a avaliar a capacidade de vacinação deste vírus quimérico. Utilizando 20 macacos *Rhesus*, injectaram, 8 deles, com o vírus Dengue tipo 4, dividindo em dois grupos os restantes doze macacos. Um destes grupos foi injectado com a vacina quimérica atenuada e o outro com a vacina quimérica sem RNA eliminado. Ao fim de um período de seis semanas injectaram em todos os macacos o vírus *West Nile*. Os resultados obtidos foram brilhantes, uma vez que os macacos que tinham recebido a vacina quimérica, apresentavam elevados níveis de anticorpos específicos ⁽¹⁵⁾.

Estes resultados representam uma esperança na busca de uma vacina, as indicações do instituto seriam que a fase 1 de testes em humanos se deveria iniciar no Verão de 2004, infelizmente não temos informação que comprove ou não esta notícia.

Referências

- (1) Borror, D. J., White R. E., 1970. *Peterson Field Guides – Insects*. Houghton Mifflin, New York
- (2) Brusca, R. C., Brusca, G. J., 2003. *Invertebrates*, 2ª edição. Sinauer Associates, Inc., USA
- (3) Epstein, P. R., Defilippo, C., 2001. West Nile Virus and Drought. *Global Change & Human Helth* 2 (2), 105-107.
- (4) Flint, S. J., Enquist, L. W., Racaniello, V. R. e Skalka, A. M., 2004. *Principles of Virology – Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses*, 2ª Edição. ASM Press, USA.
- (5) Lanciotti, R. S., Roehrig, J. T., Deubel, V., Smith, J., Parler, M., Steele, K., Crise, B., Volpe, K. E., Crabtree, M. B., Scherret, J. H., Hall, R. A., MacKenzie, J. S., Cropp, C. B., Panigrahy, B., Ostlund, E., Schmitt, B., Malkinson, M., Banet, C., Weissman, J., Komar, N., Savage, H. M., Stone, W., McNamara, T., Gublen, D. J., 1999. Origin of the West Nile Virus Responsible for an Outbreak of Encephalitis in the Northeastern United States. *Science* 286, 2333-2337.
- (6) Petersen, L. R., Roehrig, J. T., 2001. West Nile Virus: A Reemerging Global Pathogen. *Emerging Infectious Diseases* 7 (4), 611-614.
- (7) Solomon, T., 2004. Flavivirus Encephalitis. *The New England Journal of Medicine* 351 (4), 370-378.
- (8) www.west-nile-virus-prevention.com
- (9) www.defenselink.mil
- (10) www.stanford.edu
- (11) www.virology.net
- (12) www.microbeworld.org
- (13) www.cdc.gov
- (14) www.bannerhealth.com
- (15) www.niaid.nih.gov
- (16) www.cives.ufrj.br
- (17) www.hc-sc.gc.ca
- (18) <http://westnilemaps.usgs.gov>