

VIRUS WEST NILE EN ARGENTINA: UN AGENTE INFECCIOSO EMERGENTE QUE PLANTEA NUEVOS DESAFÍOS

LUIS A. DÍAZ^{1,2}, AGUSTÍN QUAGLIA¹, FERNANDO S. FLORES¹ Y MARTA S. CONTIGIANI¹

¹ Laboratorio de Arbovirus, Instituto de Virología Dr. J. M. Vanella, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. Enfermera Gordillo Gómez s/n, Ciudad Universitaria, 5016 Córdoba, Córdoba, Argentina.

² Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IIByT-CONICET). *adrian.diaz@conicet.gov.ar*

RESUMEN.— El virus West Nile es un flavivirus patógeno para humanos en el Viejo Mundo que ha experimentado recientemente un proceso de emergencia en el continente americano. Desde su introducción en 1999 en EEUU, se ha convertido en un patógeno de preocupación para las poblaciones de aves silvestres al haber provocado allí eventos masivos de mortalidad y porque numerosas especies de aves han experimentado disminuciones significativas de sus poblaciones. Para 2001 el virus ya se había dispersado fuera de EEUU, extendiéndose por América del Sur, América Central y el Caribe. Debido a la falta de un sistema de vigilancia activo para esta patología, no se conoce su verdadero impacto sobre las poblaciones silvestres en esas regiones. Sin embargo, la ausencia de epizootias indica una marcada diferencia en el comportamiento epidemiológico del virus con respecto a EEUU. En Argentina, su ecoepidemiología está poco estudiada y ha recibido poca atención en el ámbito ornitológico. Existen antecedentes de aislamiento viral en equinos enfermos y muertos, casos febriles y de encefalitis en humanos y detección de anticuerpos en aves silvestres en provincias del centro y norte del país. En este trabajo se brinda un análisis actualizado de la situación ecoepidemiológica del virus West Nile, aclarando conceptos básicos de virología y epidemiología para generar un acercamiento e interés de los ornitólogos en el área de los patógenos de importancia para la conservación de las aves. Hace falta una mayor inversión y participación en actividades de investigación interdisciplinarias para aclarar aspectos básicos de la biología, ecología y epidemiología de este nuevo patógeno en el continente americano.

PALABRAS CLAVE: *Ecoepidemiología, epizootia, flavivirus, virus West Nile.*

ABSTRACT. WEST NILE VIRUS IN ARGENTINA: A NEW EMERGING INFECTIOUS AGENT RAISING NEW CHALLENGES.— The West Nile virus, a human pathogen flavivirus, has recently shown an emerging process through the American continent. Since its introduction in 1999 into the United States, it became a concerned pathogen for wild bird populations, because of massive bird deaths events and significant bird population declines. By 2001 the virus has reached countries in South America, Central America and the Caribbean. The true role of this virus as pathogen for wild birds there is unknown, mainly due to the lack of active surveillance systems. Notwithstanding, there is no epizootic event reported yet, in contrast with the epidemiological behaviour of the virus in the United States. In Argentina, its ecoepidemiology is mostly unknown and it has received little attention from ornithologists. There are reports of viral isolations from dead equines, encephalitis and febrile human cases, as well as neutralizing antibodies detections in wild birds in central and northern provinces. In this review we provide an updated analysis regarding the ecoepidemiology of West Nile virus, and we give basic insights related to basic virological and epidemiological concepts in order to call the attention of ornithologists on the relationship between pathogens and bird conservation. Stronger support on interdisciplinary scientific projects is necessary to provide insight into the biology, ecology and epidemiology of this new viral pathogen in the American continent.

KEY WORDS: *Ecoepidemiology, epizootic, flavivirus, West Nile virus.*

Recibido 22 marzo 2010, aceptado 30 abril 2011

El virus West Nile (también conocido como virus del Nilo Occidental) es un flavivirus de la familia Flaviviridae que constituye, junto

con otros virus (St. Louis Encephalitis, Encefalitis Japonesa, Cacipacore, Murray Valley Encephalitis, Koutango, Usutu y Yaounde), el

complejo serológico Encefalitis Japonesa (ICTV 2011). El virión (partícula viral) del virus West Nile es una pequeña partícula esférica de unos 50 nm de diámetro, con simetría icosaédrica y envuelta. Está constituido por la nucleocápside, integrada por la proteína C (cápside) y el ARN viral. Su envoltura, de naturaleza fosfolipídica, proviene de la célula hospedadora y posee proteínas virales de envoltura (E) y de membrana (M) (Fig. 1; Mukhopadhyay et al. 2003). El genoma, representado por una sola molécula de ARN de polaridad positiva, funciona como ARN mensajero y posee la información necesaria para producir todas las proteínas estructurales (C, prM y E) y no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) del virión (Fig. 1; Brinton 2002). La proteína M es sintetizada como un precursor glicosilado (prM) y es importante para la maduración de viriones infecciosos. La proteína E, el mayor componente del virión, es la responsable de reconocer los receptores celulares e iniciar el proceso de infección en la célula hospedadora. Esta proteína define la especificidad tipo viral y contiene determinantes antigénicos que inducen la respuesta de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación y neutralizantes (i.e., la respuesta inmunológica del hospedador). El virus replica en el citoplasma y el ensamblado de los nuevos viriones se realiza en asociación con el retículo endoplasmático rugoso. Las nuevas partículas virales se empaquetan en vesículas y son excretadas al exterior por exocitosis (Lindenbach et al. 2007).

El virus West Nile fue aislado por primera vez en 1937 de la sangre de una mujer febril en la subregión del Nilo Occidental, en Uganda (Smithburn et al. 1940). Posteriormente, su actividad fue detectada en África, Europa, Asia y Australia (Hall 2000, Hayes 2001, Petersen y Roehrig 2001, Zeller y Schuffenecker 2004, Kramer et al. 2007). Desde su aislamiento hasta fines de la década de 1990 no se lo consideró un patógeno importante para humanos ni animales; las epidemias eran infrecuentes y asociadas por lo general a baja incidencia de enfermedad neurológica leve. La primera epidemia registrada en humanos ocurrió en Israel en 1950 (Bernkopf et al. 1953, Goldblum et al. 1956). Otras epidemias fueron detectadas en el sur de Francia (1962–1964) y Sudáfrica (1974), seguidas por un período aproximado de 20 años de baja actividad viral

(Hannoun et al. 1964, Panthier et al. 1968, Jupp 2001). Sin embargo, a partir de 1994 se observó un alarmante incremento en la frecuencia y severidad de las epidemias en humanos y equinos. En 1994 se registraron 50 casos humanos y 2 muertes en Argelia (Le Guenno et al. 1996). Dos años después se reportaron 393 casos y 17 muertes en una epidemia en Rumania, la cual representó la primera epidemia por este virus en un área urbana (Tsai et al. 1998). Otras epidemias ocurrieron en Túnez en 1997 (173 casos), en Rusia en 1999 (318 casos), en

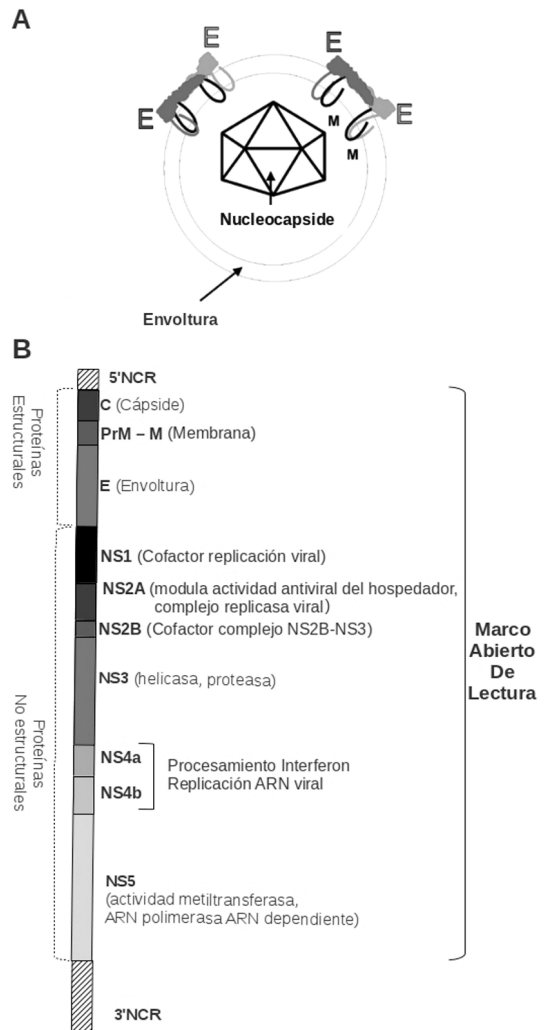


Figura 1. Representación esquemática de la estructura (A) y del genoma (B) del virus West Nile. E: proteínas de envoltura; M: proteínas de membrana.

Israel en 2000 (417 casos) y en Rusia en 2000-2001 (120 casos) (Zeller y Schuffenecker 2004).

Las epidemias ocurren en la actualidad de manera regular en Europa y en la cuenca del Mediterráneo. Al mismo tiempo, fueron registradas epizootias en equinos en Marruecos en 1996 (94 casos), en Italia en 1998 (14 casos), en Francia en 2000 (76 casos), en Israel en 2000 (76 casos) y en Francia en 2004 (32 casos). En la última década ocurrieron casos esporádicos de enfermedad en aves, aislándose cepas virales a partir de individuos con enfermedad neurológica en Israel (1998) y Hungría (2003-2005) (Malkinson et al. 2002, Bakonyi et al. 2005, Erdélyi et al. 2007).

Los estudios moleculares, basados en el análisis de secuencias nucleotídicas, indican la existencia de cinco linajes diferentes para el virus West Nile (Berthet et al. 1997, Lanciotti et al. 1999): el linaje 1 (constituido por cepas virales aisladas en EEUU, África, Medio Oriente, Asia y Australia), el linaje 2 (restringido a la región del África Subsahariana; Scherret et al. 2001), el linaje 3 (detectado en la República Checa; Bakonyi et al. 2005), el linaje 4 (registrado en los Cáucos rusos; Prilipov et al. 2002) y el linaje 5 (representado por una cepa aislada en India; Bondre et al. 2007). Los agrupamientos filogenéticos de los aislamientos no se correlacionan con la distribución geográfica, indicando la existencia de un movimiento importante de cepas virales que podrían estar siendo intercambiadas por el flujo migratorio de aves (Berthet et al. 1997). La mayoría de las epidemias importantes de encefalitis en humanos fueron ocasionadas por cepas pertenecientes al linaje 1, existiendo una asociación entre genotipo y virulencia.

PRESENTACIÓN CLÍNICA, LESIONES, PATOGÉNESIS E HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN

El virus West Nile fue asociado a enfermedad febril en África y Medio Oriente, ocasionando epidemias o como una enfermedad febril leve endémica (Hayes 2001). Su asociación con la producción de encefalitis y muerte es relativamente nueva y sugiere la presencia de cepas emergentes del virus (Tsai et al. 1998, Nash et al. 2001, Platonov et al. 2001). La patogénesis de la infección por el virus West Nile es escasamente comprendida en aves silvestres naturalmente expuestas dada la dificultad de

poder aplicar diseños biomédicos en poblaciones silvestres (Wobeser 2006, 2007). Sin embargo, los principales aspectos relacionados con el progreso de la infección han sido estudiados en aves domésticas y silvestres cautivas.

Presentación clínica y lesiones

En aves, el virus se manifiesta con una variedad de signos clínicos que incluyen debilidad general, estacionamiento, incapacidad de volar, mantenerse perchado o caminar, deglución alterada, anorexia y muerte (Steele et al. 2000). Dada su afinidad por el sistema nervioso, las alteraciones del Sistema Nervioso Central observadas con mayor frecuencia incluyen ataxia, temores, opistotonos, ceguera de origen central y convulsiones, movimientos o natación en círculos. Las lesiones típicamente observadas en el Sistema Nervioso Central incluyen hemorragia y congestión supraoccipital, meníngea intracerebral o difusa. El encéfalo presenta coloración rosada o púrpura. El cerebelo es uno de los principales tejidos afectados, con hemorragias notorias en la folia cerebelosa y necrosis neuronal acompañada o no de cambios degenerativos en la capa molecular cerebelosa (Wünschman et al. 2004, 2005). En los casos leves las lesiones son comunes en el cerebelo y en el tronco encefálico, mientras que en casos graves las lesiones se tornan generalizadas en el Sistema Nervioso Central. Si la infección provoca inflamación del Sistema Nervioso Periférico se pueden observar ciertos signos neurológicos asociados como paresia, parálisis y deglución alterada (Nemeth et al. 2006).

Dada la distribución tisular generalizada del virus West Nile (pantrópica), pueden ser también observados signos clínicos asociados con la presencia de lesiones en distintos órganos, si bien suelen estar enmascarados por los signos nerviosos más evidentes. Ojo, corazón, pulmones, bazo, intestino, esófago, proventrículo, ventrículo, cloaca, riñón, gónadas y tegumento suelen ser blanco de la actividad replicativa viral, estando acompañado de una respuesta inflamatoria concurrente (Steele et al. 2000, Wünschman et al. 2004, 2005, Nemeth et al. 2006, Ellis et al. 2007, Erdélyi et al. 2007, Saggese 2007a, Saito et al. 2007).

El diagnóstico rutinario de las aves rapaces ingresadas a un centro de rehabilitación en

Colorado (EEUU) permitió detectar la actividad y circulación viral 14 días antes que los otros sistemas de vigilancia epidemiológica (Nemeth et al. 2007b). Identificar signos clínicos, lesiones, presentaciones y exposición al virus es de suma importancia no solo para la salud de las poblaciones de aves silvestres, sino también para la salud pública.

La magnitud, extensión e intensidad de las lesiones variará fundamentalmente en relación al curso de la enfermedad y a diferencias inter e intraespecíficas. Por ejemplo, aves rapaces infectadas naturalmente no presentaron signos de enfermedad mientras que las mismas especies infectadas en condiciones de laboratorio sí lo hicieron (Nemeth et al. 2006).

Las infecciones inaparentes en aves silvestres tienen distintos efectos, pudiendo determinar, inclusive, la muerte, la cual podría ser atribuida a otras causas (Nemeth et al. 2006), razón por la cual no se estarían valorando otros posibles determinantes sobre la susceptibilidad del hospedador o interacciones entre agentes patógenos. Komar et al. (2001, 2003a) mostraron que el 17% de los individuos muertos de *Columba livia* en pleno brote epidémico en la ciudad de Nueva York en 2000 eran positivas para el virus West Nile, mientras que en estudios experimentales ninguna de estas aves murió al ser inoculada con el virus. Por lo tanto, en aquellas especies en las cuales la infección comúnmente no es fatal, el deceso podría deberse a la presencia de una enfermedad concurrente o a un estado de inmunosupresión (Komar et al. 2003a, Höfle et al. 2008). Estas infecciones representarían una importante causa de mortalidad (Komar et al. 2003a), en especial en poblaciones geográficamente restringidas o en peligro, para las cuales el desafío impuesto por este virus puede ser mayor (Saggese 2007a, 2007b, Höfle et al. 2008, Pollock 2008).

Historia natural y patogénesis

En las aves, el virus alcanza el sistema linfoide agregado perivascular difuso (Schmidt et al. 2003) y, desde allí, a través de la sangre se desarrolla una viremia con la consiguiente diseminación, variando el tropismo por diferentes órganos en las distintas especies de aves estudiadas, e incluso en las especies de una misma familia (Wünschmann et al. 2004, 2005, Saggese 2007a, Diamond 2009b). El periodo

virémico suele estar restringido a 1–10 días, debido fundamentalmente a la aparición de anticuerpos neutralizantes (McLean y Ubico 2007).

Por lo general, los signos clínicos se desarrollan luego de la viremia, cuando el virus replica en los tejidos. En los casos de enfermedad aguda, la muerte se produce 12–24 h después de la infección sin signos clínicos a excepción de una debilidad general. En aves silvestres ésta puede ser la única presentación. Sin embargo, en algunos grupos (e.g., en córvidos) la muerte sobreviene durante la fase virémica, con manifestaciones de infección viral generalizada por un tiempo muy breve (Komar et al. 2003a, Wünschmann et al. 2005), facilitando el acceso de mosquitos a las aves virémicas e incrementando el riesgo de predación (Blitvich 2008).

La magnitud de la viremia y la infección de los tejidos blanco varía según el genotipo viral involucrado, la especie de ave y la edad. Individuos de *Corvus brachyrhynchos* infectados con cepas del Viejo Mundo no solo desarrollaron viremias y tasas de mortalidad inferiores, sino que también presentaron anticuerpos neutralizantes y protectores para la infección frente al genotipo NY99 (Brault et al. 2004, 2007, Blitvich 2008). Más allá del patrón generalizado de infección, cualquier infección sobre el Sistema Nervioso Central o tejidos como bazo, riñón, ojo o corazón desencadenará una insuficiencia en el funcionamiento de los sistemas, condicionando el desempeño del ave infectada con consecuencias a nivel poblacional desconocidas hasta el momento. Muchas de las aves ingresadas por traumatismos en centros de rehabilitación en EEUU presentaron infecciones con virus West Nile (Ellis et al. 2007, Saggese 2007a).

En el proceso de infección en ratones, se produce una replicación inicial, posiblemente en las células dendríticas de la piel, y luego estas células migran al nódulo linfático regional (Samuel y Diamond 2006, Blitvich 2008), informando al sistema inmune sobre la infección. En este período, el sistema inmune innato juega un rol crucial y crítico sobre el riesgo de diseminación y control de la infección (Diamond et al. 2009, Hershkovitz et al. 2009, Welte et al. 2009).

Los distintos componentes del sistema inmune y su acción sobre la neutralización y

control de la infección en modelos murinos están comenzando a ser comprendidos. La respuesta humoral es sumamente importante en la protección del virus. El rol de los distintos isotipos de inmunoglobulinas sobre la protección de la infección primaria o reinfección es explicado por la cinética de aparición de anticuerpos (Samuel y Diamond 2006, Nemeth et al. 2008a, 2009, Diamond et al. 2009). En promedio, seis días después de la infección se empieza a producir IgG (Inmunoglobulina G), momento para el cual la infección ya se ha propagado por todo el organismo. De esta manera, las IgG solo cumplen un rol protector ante la reinfección (Diamond et al. 2009) y las IgM serían de suma importancia para la neutralización de los viriones circulantes en la infección primaria, repercutiendo sobre la magnitud de las lesiones por localización tisular post-viremia e infectividad del hospedador. En referencia a aves, los individuos infectados que sobreviven y producen anticuerpos neutralizantes quedan generalmente protegidos frente a futuras infecciones. La persistencia de anticuerpos neutralizantes después de la infección natural en *Columba livia*, *Corvus ossifragus* y en especies de rapaces (Nemeth et al. 2008a, 2009) y la inmunidad lograda tras el reto antigénico luego de la infección primaria experimental en *Passer domesticus* demuestran el impacto no solo sobre la salud de las poblaciones sino también en la dinámica de transmisión (Nemeth et al. 2009). También se ha observado la transferencia de anticuerpos maternos a los pichones a través del huevo o de la "leche de buche" (Stout et al. 2005, Hahn et al. 2006, Nemeth et al. 2008b). Este fenómeno tiene relevancia para la salud de las poblaciones, el éxito de nidificación, la vigilancia serológica de poblaciones, los programas de vacunación, la dinámica de transmisión y la interpretación serológica de títulos de anticuerpos en pichones, juveniles y adultos (Stout et al. 2005, Hahn et al. 2006, Chang et al. 2007).

La descripción de las lesiones, la distribución antigénica tisular y el tropismo viral por los distintos tejidos y poblaciones celulares pueden ser estudiados microscópicamente por medio de tinciones tradicionales, inmunoperoxidación e hibridación *in situ*. La histopatología no puede ser diagnóstica de infección debido a que otros agentes infecciosos aviares pueden provocar un patrón de lesiones similar

(Enfermedad de Newcastle, Influenza Aviar y Encefalitis Equina del Este; Steele et al. 2000, Phalen y Dahlhausen 2004, Wünschmann et al. 2004), por lo cual es necesario realizar un diagnóstico diferencial aplicando técnicas como el aislamiento viral, RT-PCR (transcripción inversa y amplificación genómica), hibridación *in situ* o inmunohistoquímica. Además, existe una manifiesta variación especie-específica en la presencia, magnitud y distribución tanto de las lesiones como de antígenos virales, que debería ser tenida en cuenta al momento de la toma de muestras de aves muertas (Wünschmann et al. 2005). Dado que hasta el momento no se cuenta con información de hallazgos patológicos en aves argentinas, es sumamente importante coleccionar muestras de la mayor cantidad de tejidos de cada ave muerta o, preferiblemente, enviar el ave completa al laboratorio de diagnóstico.

Hasta el momento no existe un tratamiento específico para las aves afectadas por el virus West Nile, por lo que se sugiere aplicar una estrategia terapéutica de soporte (Saggese 2007a). La inmunización por medio de vacunas inactivadas o tipo DNA recombinante y la protección de las picaduras de mosquitos, entre otras medidas de prevención, han sido recomendadas y discutidas (Nusbaum et al. 2003, Samina et al. 2005, Bowen y Nemeth 2007, Chang et al. 2007, Kilpatrick et al. 2007, Saggese 2007a). Con pronóstico desfavorable, instaurar un tratamiento en aves enfermas muchas veces no es justificable. Además, muchas de las aves que se recuperan permanecen con secuelas de las lesiones sufridas, tales como ceguera, trastornos locomotores e insuficiencia cardíaca (Phalen y Dahlhausen 2004, Saggese 2007a). Por lo tanto, la eutanasia se plantea como una alternativa para evitar el sufrimiento de las aves enfermas o convalecientes. Teniendo en cuenta esto y que gran parte de los sistemas de vigilancia epidemiológica para esta enfermedad han sido basados en la detección del virus en especies de aves con altas tasas de mortalidad (especialmente córvidos; Komar et al. 2003a, Blitvich 2008, Pollock 2008), es prioritario identificar las especies con alta tasa de mortalidad experimental y conocer las tasas aceptables de reporte y recuperación de cadáveres en aves neotropicales (Komar et al. 2003a, Ward et al. 2006). De esta manera, se podrá diseñar un sistema de vigilancia epidemiológico efectivo.

ECOLOGÍA

Ciclos de transmisión

El virus West Nile se mantiene en la naturaleza a través de la transmisión entre aves y mosquitos, quienes constituyen el ciclo de transmisión enzoótico (Fig. 2; Komar 2003, Hayes et al. 2005). Para que un mosquito se infecte debe picar e ingerir sangre de un hospedador virémico que contenga una concentración de virus mayor a 10^5 ufp/ml (ufp: unidades formadoras de placa) (Sardelis et al. 2001, Turell et al. 2002a). Esta concentración viral mínima necesaria para infectar a un mosquito vector se conoce como Umbral Mínimo de Infección (UMI) y es influenciada por la temperatura ambiental y la susceptibilidad del mosquito, que está determinada genéticamente (Turell et al. 2002a, Kilpatrick et al. 2008). Por lo tanto, todo individuo capaz de generar viremias mayores al UMI puede actuar como amplificador de la actividad viral. Luego de un período de incubación extrínseco (tiempo durante el cual el virus replica en el interior del mosquito e infecta sus glándulas

salivales), el mosquito está listo para transmitir el virus a través de la picadura a un hospedador no infectado, manteniendo la actividad viral. El período de incubación extrínseco puede variar entre 1–14 días, dependiendo de la temperatura, la cepa viral y la susceptibilidad de la población del mosquito vector (Sardelis et al. 2002, Reisen et al. 2005, Vaidyanathan y Scott 2007, Kilpatrick et al. 2008).

La mayoría de las especies de mosquitos que transmiten el virus de manera enzoótica son ornitófilos (i.e, poseen predilección por las aves para alimentarse). Sin embargo, algunos como *Culex pipiens* modifican su preferencia alimentaria durante el verano, pasando de la ornitofilia a la mamofilia, permitiendo el cambio de hospedador del virus y aumentando las posibilidades de establecer un ciclo epizoótico (enfermedad en equinos) o epidémico (enfermedad en humanos) (Kilpatrick et al. 2005, 2006). Estos vectores son conocidos como “vectores puente”, ya que tienen la capacidad de unir dos ciclos de transmisión (mosquito–ave–mosquito y mosquito–mamífero/humano–mosquito).

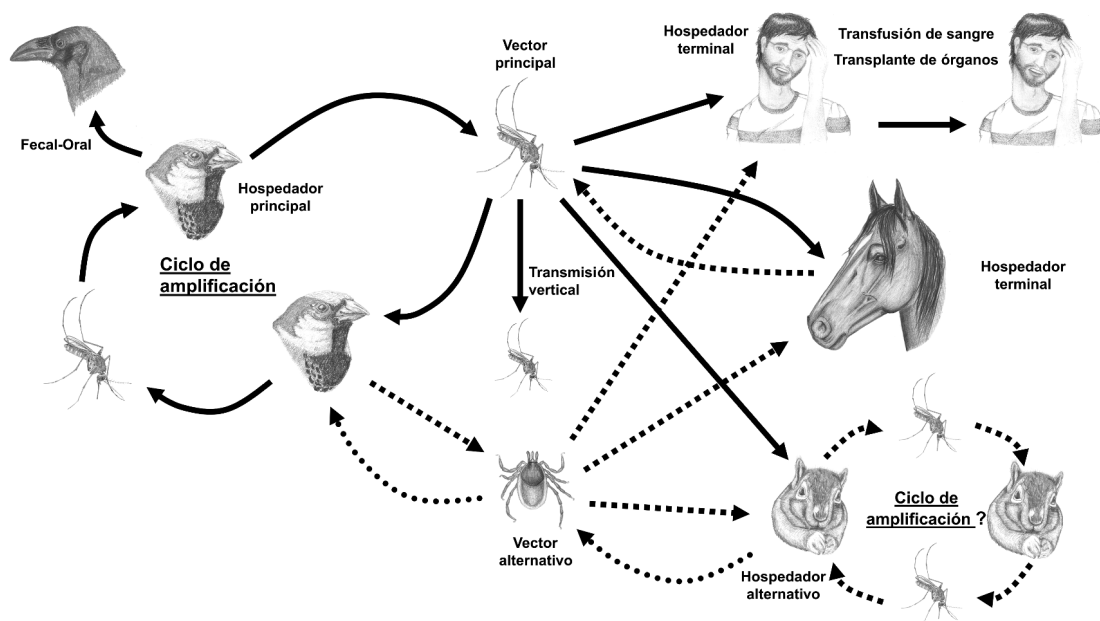


Figura 2. Ciclo de transmisión del virus West Nile en Estados Unidos. El ciclo primario y de amplificación del virus está integrado por mosquitos del género *Culex* y por *Passer domesticus*. Estos integrantes varían de acuerdo a la región geográfica en cuestión (ver sección *Ecología* en el texto). Con líneas llenas se muestran las vías tradicionales de transmisión y con líneas punteadas se representan vías alternativas.

Sobreinvernada

En climas tropicales, donde las poblaciones de mosquitos están activas a lo largo del año, la actividad viral está influenciada por la disponibilidad de hospedadores susceptibles, mientras que en climas templados, con estacionalidad térmica, las fluctuaciones poblacionales del vector determinan la actividad viral. En estos ambientes existen mecanismos alternativos por los cuales el virus puede sobrevivir el invierno y permanecer a lo largo de todo el año. Estos mecanismos, conocidos como sobreinvernada ("overwinter"), pueden incluir la transmisión vertical entre mosquitos (de hembra infectada a prole; Nasci et al. 2001, Dohm et al. 2002), la infección venérea (de machos infectados a hembras), la utilización de vectores alternativos como garrapatas (Argasidae e Ixodidae), ácaros y moscas hipoboscidas (Hubálek y Halouzka 1999, Farajollahi et al. 2005, Mumcuoglu et al. 2005) o la reintroducción anual del virus por aves o mosquitos (Rappole et al. 2000, 2006, Malkinson y Banet 2002, Peterson et al. 2003), entre otros.

Vías de transmisión alternativas

Aunque la principal vía de transmisión del virus West Nile se da a través de mosquitos infectados, se han observado vías alternativas mediante las cuales el virus se transmite eficientemente. Se ha documentado la transmisión directa de persona a persona a través de transfusiones de sangre, trasplante de órganos, vía intrauterina, durante el amamantamiento y por accidentes con agujas infectadas (Fig. 2; Centers for Disease Control and Prevention 2002a, 2002b, 2002c, Iwamoto et al. 2003, Mather et al. 2003). En ensayos de laboratorio se detectó la transmisión oral por ingesta de comida infectada en *Bubo virginianus*, *Corvus brachyrhynchos*, *Quiscalus quiscula*, *Carpodacus mexicanus* y *Passer domesticus*, y la transmisión directa entre convivientes en *Larus delawarensis*, *Cyanocitta cristata*, *Pica hudsonia* y *Corvus brachyrhynchos* (Fig. 2; Komar et al. 2003a). Si bien en *Corvus brachyrhynchos* no se pudo determinar con exactitud la vía de transmisión entre convivientes, se presume que la carga viral contenida en las heces excretadas por individuos infectados ($>10^{8.8}$ ufp/g) podría ser la fuente de infección (i.e., fecal-oral) (Fig. 2; Kipp et al. 2006).

Vectores artrópodos

El virus West Nile ha sido aislado de especies de mosquitos pertenecientes a 12 géneros diferentes (*Aedes*, *Aedeomyia*, *Anopheles*, *Coquilletidia*, *Culex*, *Culiseta*, *Deinocerites*, *Mansonia*, *Mimomyia*, *Orthopodomyia*, *Psorophora* y *Uranotaenia*), aunque las pertenecientes al género *Culex* son los vectores más importantes involucrados en su transmisión, mantenimiento y amplificación (Zeller y Schuffenecker 2004, Hayes et al. 2005, Kramer et al. 2007). No todas las especies de mosquitos son eficientes a la hora de transmitir el virus, así como tampoco es suficiente detectar actividad viral en una especie para considerarla como vector. Por el contrario, son varios los requisitos que una especie de mosquito debe cumplir para ser considerado un vector eficiente, incluyendo (1) demostrar que el mosquito se infecta y transmite el virus de manera eficaz de un hospedador virémico a otro no virémico en condiciones de laboratorio, (2) poseer una abundancia relativa elevada en el ambiente donde hay circulación viral, y (3) obtener aislamientos virales frecuentes en individuos de la especie colectados en el campo (Turell et al. 2001). Conocer la preferencia alimentaria de un mosquito es importante para determinar la ecoepidemiología del virus. Por lo general, las especies de mosquito que prefieren alimentarse del hospedador principal intervienen en el ciclo de transmisión, mientras que los que prefieren alimentarse de hospedadores accidentales no integran el ciclo primario de transmisión.

En EEUU los vectores más importantes son *Culex pipiens* y *Culex restuans* en el noreste, *Culex tarsalis* en el oeste y *Culex quinquefasciatus* en el sur. Las poblaciones de *Culex pipiens* y *Culex restuans* del noreste son altamente eficientes en la transmisión viral bajo condiciones de laboratorio (Turell et al. 2000, Sardelis et al. 2001) y son altamente ornitófilas. La proporción de individuos de estas especies alimentados de aves:mamíferos es de 23:1 y 6:1, respectivamente (Apperson et al. 2002). Por sus altas abundancias, ambas han sido implicadas como importantes vectores puente para la región (Kilpatrick et al. 2005). *Culex salinarius* es allí otro vector puente importante, muy eficiente en la transmisión viral y de preferencia alimentaria oportunista (Sardelis et al. 2001, Apperson et al. 2004). *Culex tarsalis*

es ornitófilo, pero también se alimenta de mamíferos, particularmente a fines de verano y comienzo de otoño, por lo cual es considerado un importante vector puente (Reisen y Reeves 1990). Esta especie se considera el principal vector del virus en el oeste de EEUU por su elevada abundancia y su eficiencia en la transmisión viral (Goddard et al. 2002, Turell et al. 2002b, 2005). *Culex quinquefasciatus*, mosquito común de las habitaciones en Argentina, no es muy eficiente en la transmisión viral pero es muy común y abundante en poblaciones urbanas y periurbanas. Esta especie se alimenta de aves, humanos y mamíferos y se lo encuentra frecuentemente infectado (Sardelis et al. 2001, Goddard et al. 2002, Hayes et al. 2005, Turell et al. 2005).

La eficiencia de la transmisión viral por un mosquito depende de varios factores ambientales, en particular la temperatura y las precipitaciones (Epstein 2001), así como de factores genéticos intrínsecos del individuo. A medida que la temperatura aumenta, la eficiencia en la transmisión viral mejora (Dohm et al. 2002, Reisen et al. 2006). Las epidemias ocurridas en Rumania (1996), Rusia (1999) y EEUU (2002–2004) se asociaron a temperaturas ambientales superiores a las esperadas (Han et al. 1999, Platonov et al. 2001, Reisen et al. 2006). Shaman et al. (2005) detectaron que en períodos de extrema sequía los hospedadores aviares y los mosquitos vectores entran en mayor contacto en espejos de agua, lo que incrementa la actividad viral. Este mismo efecto se ha observado para el virus St. Louis Encephalitis (Shaman et al. 2002, 2003), un flavivirus endémico que es transmitido por mosquitos del género *Culex* y aves columbiformes en la provincia de Córdoba, Argentina (Díaz 2009). En la actualidad, más de 18000 mosquitos adultos colectados en las provincias de Chaco, Córdoba y Tucumán en el período 2004–2006 han sido analizados para la detección molecular del virus West Nile, sin encontrarse individuos infectados. Por lo tanto, se desconoce las especies de mosquitos vectores para el virus en Argentina. Teniendo en cuenta las similitudes ecológicas con el virus St. Louis Encephalitis, se puede especular que los mosquitos del género *Culex* (e.g., *Culex quinquefasciatus*, *Culex interfor*, *Culex saltanensis*) podrían actuar como vectores de mantenimiento y amplificación.

Hospedadores aviares

Las aves son el principal reservorio del virus West Nile (McLean et al. 2001, Komar 2003, Hayes et al. 2005). Los Passeriformes son considerados los principales hospedadores de mantenimiento y amplificación del virus, en particular *Passer domesticus* (Komar et al. 2003a, Langevin et al. 2005), tanto en EEUU como en Europa, debido a su elevada abundancia, alta seroprevalencia de infección y por desarrollar viremias elevadas y duraderas (Hubálek 2000, Komar 2003). Los ensayos de inoculación en laboratorio demostraron que las viremias producidas por *Passer domesticus* excedían las 10^{10} ufp/ml y mantenían por cinco días viremias superiores a 10^5 ufp/ml (Komar et al. 2003a, Langevin et al. 2005). Otras especies de aves que desarrollaron viremias excepcionalmente elevadas fueron *Corvus brachyrhynchos*, *Cyanocitta cristata*, *Quiscalus quiscula* y *Turdus migratorius* (Komar et al. 2003a, Reisen et al. 2005). Otras especies hospedadores competentes han sido detectadas en otros órdenes, incluyendo Charadriiformes, Falconiformes y Strigiformes. Por el contrario, en Anseriformes, Columbiformes y Piciformes usualmente se generan viremias insuficientes para infectar mosquitos vectores (Komar et al. 2003a).

Un total de 284 especies de aves han sido detectadas infectadas en la naturaleza por el virus West Nile en EEUU (Hayes et al. 2005), siendo frecuente en *Cardinalis cardinalis*, *Mimus polyglottos*, *Dumetella carolinensis*, *Toxostoma rufum*, *Columbina passerina*, *Zenaid macroura*, *Turdus migratorius* e *Hylocichla mustelina*. La mayoría de los individuos seropositivos correspondía a adultos (relacionado con la presencia de por vida de los anticuerpos), especies con hábitos residentes (en contraposición a las migratorias) y de ambientes urbanos y suburbanos (por sobre las áreas rurales o boscosas) (Komar et al. 2005a, Beveroth et al. 2006, Gibbs et al. 2006). Si bien la detección de anticuerpos específicos para el virus en animales silvestres es de utilidad, no es evidencia concluyente sobre el rol de la especie como hospedador en el mantenimiento del virus.

Los hospedadores deben reunir una serie de requisitos: (1) ser infectados naturalmente por el virus, (2) ser susceptibles a la infección viral (i.e., permitir la replicación del virus), (3) generar una viremia (carga viral en sangre) supe-

rior al UMI y con una duración suficiente como para que el mosquito vector se alimente e infecte, (4) ser abundantes, y (5) poseer un elevado grado de asociación en tiempo y espacio con el vector y con el virus. No es fácil determinar y comparar cuantitativamente el rol como hospedador de diferentes especies. La competencia del hospedador está determinada por factores intrínsecos al individuo relacionados con la replicación y amplificación del virus (Komar et al. 2003a). El índice de competencia del hospedador tiene en cuenta parámetros relacionados con el título y duración de la viremia, expresados como número de mosquitos infecciosos producidos diariamente por un individuo del hospedador (Komar et al. 2003a). *Cyanocitta cristata*, *Aphelocoma californica*, *Corvus brachyrhynchos*, *Quiscalus quiscula*, *Carpodacus mexicanus*, *Passer domesticus*, *Larus delawarensis*, *Pica hudsonia* y *Turdus migratorius* poseen altos índices de competencia del hospedador (Kilpatrick et al. 2007). Sin embargo, este índice no tiene en cuenta factores importantes como la abundancia poblacional o la prevalencia de infección en la naturaleza. El índice de capacidad del hospedador, que está determinado por la suma de factores intrínsecos, ecológicos y ambientales, brinda información sobre el rol como hospedador de una especie en un escenario epidemiológico determinado (Komar et al. 2005a). En un estudio realizado para conocer las especies de aves que actúan como hospedadores de mantenimiento del virus en un ciclo enzoótico en St. Tammany Parish (Louisiana, EEUU), se determinó que los principales hospedadores amplificadores eran *Cardinalis cardinalis* y *Passer domesticus*, mientras que *Cyanocitta cristata* y *Mimus polyglottos* contribuían al mantenimiento del virus pero en menor magnitud (Komar et al. 2005a).

EFFECTOS EN POBLACIONES SILVESTRES DE AVES

La asociación de la actividad del virus West Nile con eventos de mortalidad aviar fue detectada en EEUU (Beasley et al. 2002) y en Israel (Bin et al. 2001), sin que haya antecedentes en otros países. La presencia de aves muertas fue empleada como un método de vigilancia epidemiológica por centinelas para la detección temprana del virus en una región determinada (Eidson et al. 2001, Julian et al.

2002, Mostashari et al. 2003, Nemeth et al. 2007a). En un estudio de inoculación de aves residentes en EEUU para evaluar el potencial virulento de la cepa NY99 del virus se observó que de un total de 25 especies inoculadas, 8 presentaron algún porcentaje de mortalidad. Las especies más susceptibles a los efectos de la infección viral fueron *Cyanocitta cristata*, *Quiscalus quiscula*, *Carpodacus mexicanus*, *Corvus brachyrhynchos* y *Passer domesticus* (Komar et al. 2003a).

Todo organismo depende ampliamente de la capacidad de respuesta, adaptación y modulación de su sistema inmunológico, el que le permite resistir las distintas noxas a las que está expuesto a lo largo de su vida (Tizard 2004, Wobeser 2006). Las demandas energéticas, sus consecuencias y los factores involucrados en la "decisión" para cubrir el desarrollo, activación y funcionamiento del sistema inmune, aunque sean materia de estudio reciente, aún es motivo de especulación para las poblaciones silvestres (Wobeser 2006). Existe una comprobada asociación entre la maduración, la integridad y la funcionalidad del sistema inmune y la resistencia a la infección por el virus West Nile (Diamond et al. 2009a). Por lo tanto, las poblaciones silvestres en distintas situaciones fisiológicas (e.g., nidificación, migración, muda), comportamentales (e.g., territorialidad, apareamiento), de inmunosupresión, de deficiencias nutricionales, de estrés a causa de los humanos y de exposición a inmunotóxicos (Fairbrother et al. 2004, Forero et al. 2006, Wobeser 2006, Höfle et al. 2008, Nemeth et al. 2009, Beldomenico y Begon 2010) desplegarían un amplio abanico de susceptibilidad al riesgo de infección. En estudios experimentales en mamíferos se pudo demostrar que en estados de inmunosupresión el desarrollo de viremia se eleva con respecto al estado de inmunidad normal, generando viremias suficientemente elevadas como para transmitir el virus a mosquitos vectores (Bowen y Nemeth 2007). Los valores de mortalidad conocidos para la mayoría de las aves experimentalmente infectadas estarían sobrevalorados en comparación a la infección en vida libre. Esta diferencia puede ser atribuida al efecto inmunosupresor ejercido por el estrés del manejo constante en estudios experimentales. Por ejemplo, individuos infectados de *Passer domesticus* presentaron una mortalidad de 27.8% y de 7.5% cuando esta-

ban enjauladas (sujetas a maniobras invasivas) y en aviarios amplios, respectivamente (Nemeth et al. 2009). El efecto del virus en poblaciones silvestres de aves podría ser significativo, aunque hasta el momento los resultados son contradictorios y las metodologías utilizadas para la cuantificación del efecto son discutibles (Yaremych et al. 2004, LaDeau et al. 2007, Medica et al. 2007, Pollock 2008, Wheeler et al. 2009). El entendimiento del efecto a largo plazo de la infección sobre los parámetros individuales y poblacionales no se logrará sin la aplicación de estudios longitudinales (Beldomenico et al. 2008).

Durante los primeros años que siguieron a la introducción del virus en el continente americano se desconocía el impacto que podía llegar a tener en poblaciones silvestres de aves y, en particular, sobre especies en peligro de extinción (e.g., *Aphelocoma coerulescens*, *Centrocercus urophasianus*, *Dendroica kirtlandii*, *Gymnogyps californianus*, *Grus americana*). Los primeros estudios del impacto del virus en poblaciones de aves detectaron una disminución poblacional significativa en *Centrocercus urophasianus* (Naugle et al. 2004), *Corvus brachyrhynchos* (Yaremych et al. 2004, Caffrey et al. 2005) y *Cyanocitta cristata* (Komar et al. 2005a), con una marcada heterogeneidad espacial (Bonter y Hochachka 2003, Caffrey 2003, Hochachka et al. 2004). En un estudio reciente en el cual se analizaron las tendencias poblacionales previas y posteriores a la introducción del virus se detectaron disminuciones poblacionales significativas en 7 de las 20 especies analizadas (LaDeau et al. 2007). Las poblaciones afectadas negativamente pertenecían a las familias Corvidae (*Corvus brachyrhynchos*, *Cyanocitta cristata*), Turdidae (*Turdus migratorius*, *Sialia sialis*), Paridae (*Baeolophus bicolor*, *Poecile carolinensis*, *Poecile atricapillus*) y Troglodytidae (*Troglodytes aedon*), todas ellas de hábitos peridomésticos y periurbanos (LaDeau et al. 2007). La intensidad con que fueron afectadas estas poblaciones no fue homogénea entre especies. Las poblaciones de *Turdus migratorius*, *Sialia sialis* y *Poecile carolinensis* disminuyeron por debajo del umbral esperado en todo su rango geográfico de distribución, mientras que en *Baeolophus bicolor* las poblaciones orientales disminuyeron con respecto a las occidentales (LaDeau et al. 2007). Las especies más afectadas por la infección del virus fueron aquellas predichas

a partir de estudios de susceptibilidad a la infección viral realizados en laboratorio y de datos de tasas de infección en poblaciones naturales (LaDeau et al. 2007). De manera similar a lo observado en estudios anteriores, la influencia del virus sobre las poblaciones silvestres varió entre especies y regiones. Por ejemplo, las poblaciones de *Quiscalus quiscula* disminuyeron de manera significativa en el estado de Maryland luego de la introducción del virus, a diferencia de las de otros estados (LaDeau et al. 2007). En California también se observaron efectos regionales negativos sobre las poblaciones de *Pica nuttalli*, *Corvus brachyrhynchos* y *Lanius ludovicianus*, las cuales disminuyeron un 83%, 63% y 63%, respectivamente (Smallwood y Nakamoto 2009).

El efecto de la actividad del virus West Nile sobre las poblaciones de aves silvestres residentes en América Latina es desconocido, debido básicamente a la ausencia de proyectos y programas de financiación que indaguen y apoyen esta temática.

EL VIRUS WEST NILE EN EEUU

La primera evidencia de actividad local del virus West Nile en EEUU se registró en la ciudad de Nueva York en el verano de 1999, cuando se denunciaron 62 casos de encefalitis en humanos y 7 muertes por este virus (Gubler et al. 2000, Nash et al. 2001). En la misma zona se registraron 25 casos de encefalitis en equinos y 9 casos fatales (Ostlund et al. 2001). Una característica particular de esta epidemia fue la mortandad de cientos de aves, en particular *Corvus brachyrhynchos* y otras especies de córvidos, en los estados de Nueva York, Connecticut y Nueva Jersey (Anderson et al. 1999). La cepa prototipo aislada en dicha epidemia (NY99) resultó estar estrechamente relacionada (99.8% de homología) con una cepa aislada en Israel en 1998 a partir de un ganso muerto (Lanciotti et al. 1999), sugiriendo la introducción de este virus desde Medio Oriente, sin conocerse hasta ahora la vía de introducción.

En los tres primeros años de actividad en EEUU (1999–2001), el virus se dispersó por 27 estados provocando un total de 18 muertes y 142 infecciones neurológicas en humanos y 823 casos de encefalitis en equinos (O'Leary et al. 2002, Blitvich 2008). En 2002 y 2003, la epidemiología del virus cambió dramática-

mente, registrándose las epidemias más importantes y prolongándose el período de actividad epidémica, incluso hasta diciembre, debido probablemente a la introducción del virus en los estados subtropicales del sur (Florida), donde la actividad del virus es anual (Blitvich 2008). Desde su introducción en 1999 hasta 2007, el virus ha provocado un total de 10979 casos neurológicos en humanos, 1060 muertes y 25325 equinos enfermos en 48 estados (Blitvich 2008).

El elevado incremento de la virulencia en 2002 coincidió con la emergencia de un nuevo genotipo (WN02) (Ebel et al. 2004, Davis et al. 2005, 2007, Moudy et al. 2007, Snapinn et al. 2007), el cual representó el 55% de los aislamientos realizados durante 2002 y el 85% de los del 2003. A partir de 2004, el genotipo original (NY99) no fue detectado en ningún aislamiento, indicando un reemplazo completo por el nuevo genotipo (Moudy et al. 2007). Las cepas virales pertenecientes al genotipo WN02 poseen tiempos de incubación extrínsecos más cortos que las cepas del NY99 en mosquitos del género *Culex* (Ebel et al. 2004, Moudy et al. 2007). Es probable que esta característica haya permitido la amplia distribución de estas cepas, el reemplazo del genotipo NY99 y el incremento de casos neurológicos en humanos y equinos en EEUU (Blitvich 2008).

DISPERSIÓN EN EL CONTINENTE AMERICANO

El primer registro de actividad autóctona del virus West Nile fuera de EEUU corresponde a un caso de enfermedad neurológica en una persona residente en las Islas Caimán durante agosto de 2001 (Komar y Clark 2006). Posteriormente se confirmó la circulación del virus en aves residentes y migratorias en Jamaica a través de la detección de anticuerpos neutralizantes en un estudio llevado a cabo en el primer trimestre de 2002 (Dupuis et al. 2003). Se detectaron 18 individuos seropositivos pertenecientes a 12 especies de aves (4 individuos de *Turdus aurantius*, 2 de *Myiopagis cotta*, *Coereba flaveola* y *Tiaris bicolor*, y 1 de *Tyrannus caudifasciatus*, *Mimus polyglottos*, *Leptotila jamaicensis*, *Columbina passerina*, *Vireo modestus*, *Icterus leucopteryx*, *Turdus jamaicensis* y *Seiurus noveboracensis*). En el mismo estudio se detectó un individuo positivo de *Dendroica petechia* en México y otro de *Mniotilta varia* en Puerto Rico

(Fig. 3). Se presume que la introducción del virus en las islas del Caribe ha sido a través de aves migratorias, mecanismo por el cual también el virus habría ingresado al sur del estado de Florida, EEUU, y en el golfo de Yucatán, México (Komar y Clark 2006).

En julio de 2002 se registraron caballos y gallinas infectados con el virus en Isla Guadalupe (Quirin et al. 2004) y seis meses después la tasa de seroconversión en equinos fue del 47.4%. En la actualidad, los niveles de actividad han disminuido drásticamente, llegando a niveles bajos de seroconversión (<1%; Lefrançois et al. 2006). En el Parque Nacional Los Haitises, República Dominicana, el 15.2% del total de aves muestreadas en noviembre de 2002 ($n = 33$) resultaron positivas cuando se las examinó con la técnica de neutralización (Komar et al. 2003b). En marzo de 2003 se detectaron 12 individuos seropositivos (20.7%) en el Parque Nacional Monte Cristi, en el límite con Haití (Komar et al. 2005b). Algunas de las especies de aves seropositivas incluyeron a *Coccyzus minor*, *Geotrygon montana*, *Loxigilla violacea*, *Phaenicophilus palmarum*, *Ploceus cucullatus*, *Temnotrogon roseigaster*, *Quiscalus niger*, *Saurothera longirostris* y *Turdus plumbeus*.

En México, la presencia del virus se detectó por primera vez en equinos en julio de 2002 (Fig. 3; Blitvich et al. 2003, Estrada-Franco et al. 2003, Loroño-Pino et al. 2003). Se detectó infección en aves silvestres en 2003 (Fernández-Salas et al. 2003, Farfán-Ale et al. 2004) y casos humanos en 2004 (Ramos y Falcón Lezama 2004). Hasta el momento, México y Puerto Rico son los únicos países, además de EEUU, en los cuales se han podido aislar cepas virales de aves silvestres (*Ardea herodias*, *Butorides striatus*, *Columba livia*, *Corvus corax*, *Fulica* sp., *Quiscalus* sp., *Phalacrocorax* sp. en México y *Falco sparverius* en Puerto Rico; Hunsperger et al. 2009). Los estudios filogenéticos a partir de cepas aisladas de aves y equinos han detectado que la introducción en México ha ocurrido al menos a través de dos eventos independientes: en la península de Yucatán proveniente del sureste de EEUU y en el norte de México proveniente del suroeste de EEUU (Deardorff et al. 2006).

En simultáneo con la dispersión del virus en equinos en México en 2003 (Estrada-Franco et al. 2003), se observó actividad en El Salvador

(equinos), Guatemala (equinos), Belice (equinos), Cuba (aves), Puerto Rico (aves) y Bahamas (humanos) (Fig. 3; Cruz et al. 2005, Dupuis et al. 2005, Komar y Clark 2006, Morales-Betoulle et al. 2006). En El Salvador la presencia del virus se asoció a una epizootia de encefalitis en equinos (Cruz et al. 2005), mientras que en Belice se encontró en caballos enfermos pero sorprendentemente no se detectó infección en 4000 aves analizadas en 2002–2003 (Komar y Clark 2006). De las dos especies infectadas detectadas en Cuba, una es residente (*Turdus plumbeus*) y la otra migratoria (*Egretta caerulea*), mientras que en Puerto Rico fueron detectadas una residente (*Coereba flaveola*) y seis migratorias (*Butorides striatus*, *Seiurus noveboracensis*, *Coereba flaveola*, *Protonotaria citrea*, *Falco columbarius*, *Geothlypis trichas*) (Dupuis et al. 2005). Posteriormente se detectaron equinos infectados en Cuba y Puerto Rico, pero solo en La Habana, Cuba, fue detectada en 2003 la enfermedad neurológica en humanos (Pupo et al. 2006).

En el otoño de 2004, 8 caballos residentes y 2 patos domésticos fueron detectados seropositivos en Trinidad (Komar y Clark 2006), y se registraron 12 equinos infectados en el norte de Colombia (Mattar et al. 2005), convirtiéndose en los primeros registros de actividad del virus en América del Sur (Fig. 3). En Venezuela se detectaron aves silvestres (*Turdus leucomelas* y *Coereba flaveola*) y gallinas (*Gallus gallus*) seropositivas durante 2006. En el mismo estudio, se detectaron equinos infectados a partir de febrero de 2004 (4.3% de infección; Bosch et al. 2007). A fines de 2004 el virus había alcanzado Argentina (Díaz et al. 2008). Los esfuerzos realizados para detectar su presencia en aves silvestres migratorias y residentes en Brasil fueron infructuosos hasta 2004 (Alves Araujo et al. 2004), pero se detectaron anticuerpos contra el virus en sueros de equinos colectados en 2009 en la región del Pantanal (Pauvolid-Corrêa et al. 2011), constituyendo el primer registro de actividad en ese país (Fig. 3).

El comportamiento ecoepidemiológico del virus en los países de América Latina ha sido muy diferente del observado en EEUU. Los casos humanos y la mortandad de aves han sido escasos y esporádicos, sin detectarse hasta el presente ninguna epidemia o epizootia. Algunos registros de enfermedad neurológica en humanos se detectaron en Bahamas, Cuba,

Haití, México y Argentina, mientras que solo en México se registraron esporádicamente aves muertas. Si bien se desconocen las causas de dichas diferencias, se han propuesto algunas explicaciones, que se detallan a continuación.

(1) La dispersión del virus a través de aves migratorias podría seleccionar cepas virales atenuadas, siempre y cuando cepas más virulentas y patógenas para humanos imposibiliten la migración de los individuos aviares. Para los virus Encefalitis Japonesa y St. Louis Encephalitis, flavivirus relacionados al virus West Nile, se han observado diferencias similares en sus áreas tropicales de distribución (Gubler 2007). En México se aisló una cepa atenuada aislada de *Corvus corax*, aunque otras ocho cepas no presentaron atenuación alguna y, además, ensayos de experimentación en *Catharus ustulatus* y *Dumetella carolinensis* determinaron que la infección por el virus no impide su actividad migratoria (Deardorff et al. 2006, Owen et al. 2006).

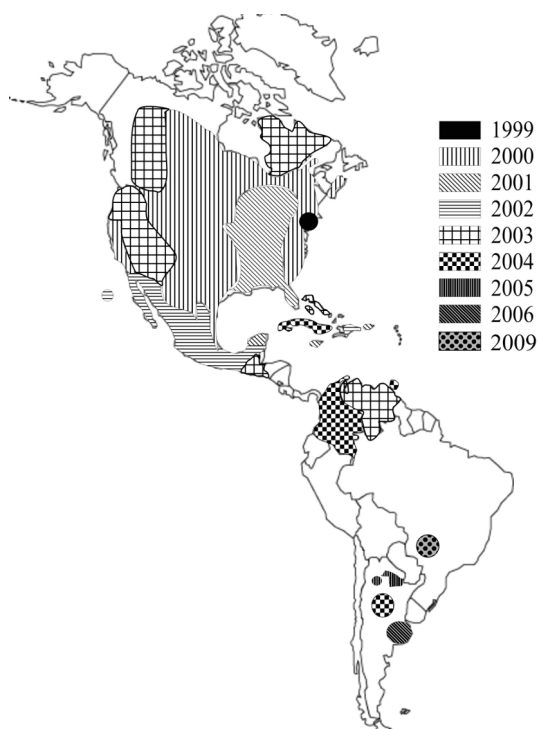


Figura 3. Dispersión del virus West Nile en el continente americano desde su introducción en EEUU en 1999, según antecedentes publicados hasta 2011.

(2) La circulación previa de otros flavivirus (Bussuquara, Dengue, Ilheus, Rocío, St. Louis Encephalitis) podría disminuir las probabilidades de enfermedad neurológica debido a la existencia de protección cruzada entre flavivirus. Si bien la infección previa por otro flavivirus no genera protección heteróloga, podría generar cierta modulación durante el proceso patogénico de la infección (Gubler 2007).

(3) La existencia de sistemas de vigilancia poco sensibles y pruebas de laboratorio inespecíficas podrían impedir la detección de enfermedad por el virus. La vigilancia de la actividad del virus en EEUU representó una inversión considerable de recursos en equipamiento, reactivos y personal técnico. Como la mayoría de los países de América Latina y el Caribe no poseen dichas condiciones, es probable que la detección de la enfermedad no se esté realizando o bien podría ser que sea diagnosticada erróneamente como dengue u otra infección viral (Petersen y Hayes 2008).

(4) Es posible que debido a la presencia de una mayor diversidad en las comunidades de hospedadores (aves) y vectores (mosquitos), la actividad se diluya entre especies poco competentes para la transmisión viral ("efecto dilución"; Swaddle y Calos 2008).

SITUACIÓN DEL VIRUS WEST NILE EN ARGENTINA

Los primeros antecedentes de actividad del virus West Nile en Argentina se remontan a 2006, cuando tres caballos murieron de encefalitis causada por este virus. Dos caballos murieron a fines de febrero en dos campos cercanos a San Antonio de Areco, provincia de Buenos Aires. Aunque cada campo tenía más de 300 caballos, ningún otro presentó signos clínicos. El tercer caballo murió en marzo en el Jockey Club de San Isidro, provincia de Buenos Aires, a las 48 h de haber llegado de un campo de caballos de polo de la provincia de Entre Ríos cercano a la ciudad de Victoria. Al parecer, ninguno de estos caballos tenía antecedentes de viajes al exterior ni vacunación contra el virus West Nile (Morales et al. 2006). La caracterización molecular posterior de estas cepas virales determinó su asociación con la cepa NY99, aislada durante el brote de Nueva York (EEUU) en 1999 (Fabbri et al. 2008). Dos meses

después del aislamiento (abril de 2006) se realizó una encuesta serológica para la detección de IgM en el suero de los caballos de los haras donde se habían enfermado los equinos. Solo 2 sueros (0.31%) presentaron IgM de un total de 636 muestras analizadas por la técnica de ELISA (enzima inmunoensayo). Las mismas muestras fueron analizadas por la técnica de neutralización para la detección de anticuerpos específicos para el virus West Nile, encontrándose una seroprevalencia general baja (1.1%; $n = 634$). En esos mismos predios se confirmó la circulación del virus St. Louis Encephalitis, cuya seroprevalencia general fue de 4.3% ($n = 634$). Las encuestas serológicas realizadas en el haras de Victoria arrojaron resultados negativos (MA Morales, com. pers.).

Las tasas de infección detectadas en equinos continuaron siendo bajas en un estudio colaborativo entre el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) y el INEVH (Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas) realizado entre octubre y diciembre de 2006. Se analizaron 1269 sueros provenientes de 17 sitios elegidos en base al riesgo de introducción del virus a través de aves migratorias y por poseer antecedentes históricos de actividad de arbovirus en Argentina. La seroprevalencia general de anticuerpos neutralizantes detectada fue de 0.63% y en solo 5 de los 17 sitios estudiados: Bajos Submeridionales (Santa Fé), Laguna La Etruria (Córdoba), Esteros del Iberá (Corrientes), Laguna de Lobos (Buenos Aires) y Laguna Melincué (Santa Fe) (MA Morales, com. pers.).

En febrero de 2010 se registró un pequeño brote epizootico en un haras ubicado en Vikuña Mackenna (provincia de Córdoba), en el cual murieron dos equinos y otros siete resultaron infectados (Contigiani, obs. pers.). En abril se realizó un estudio de seroprevalencia en aves silvestres, detectándose una muy baja prevalencia (1.45%, $n = 69$) y un solo individuo de *Machetornis rixosa* que resultó positivo. Esta fue la segunda epizootia en equinos por el virus registrada en Argentina.

Un estudio de seroprevalencia en poblaciones silvestres de aves confirmó que ya existía actividad para el virus a fines de 2004 en la ciudad de Córdoba (Díaz et al. 2008). El estudio, realizado en cinco localidades del centro-norte de Argentina entre enero de 2004 y junio

de 2006, reportó actividad en las provincias de Tucumán, Córdoba y Chaco (Díaz et al. 2008). La presencia de anticuerpos neutralizantes anti-virus West Nile se detectó en 43 aves sobre un total de 1845 sueros analizados. El rango de los títulos de anticuerpos varió entre 40–2560, indicando la presencia de infecciones recientes y antiguas. Además, la actividad reciente del virus fue detectada por la seroconversión de tres individuos de *Furnarius rufus* anillados en la ciudad de Córdoba (uno entre enero y febrero de 2005 y dos entre enero y marzo de 2005). En la tabla 1 se muestran las especies de aves infectadas y el sitio donde fueron detectadas. Un total de 18 especies fueron halladas infectadas, resaltando la alta seroprevalencia detectada en *Turdus amaurochalinus* (11.36%), *Turdus rufiventris* (6.82%) y *Furnarius rufus* (6.12%) (Díaz et al. 2008). De un total de 659 sueros colectados en enero, febrero, marzo, abril y diciembre de 2004, ninguno fue positivo para el virus, mientras que para 2005 la actividad fue detectada en cinco sitios, los cuales incluían una variedad de ecosistemas: el Espinal periurbano en Córdoba (1.1%, $n = 543$), el Espinal en Mar Chiquita (5.1%, $n = 313$), el Chaco Semiárido en Monte Alto (9.8%, $n = 82$), campos de cultivo en Montecristo (9.5%, $n = 21$) y las Yungas periurbanas en San Miguel de Tucumán (5.3%, $n = 227$). El primer individuo positivo (*Furnarius rufus*) data de enero de 2005 y fue colectado en la ciudad de Córdoba, indicando que la infección ya había ocurrido a fines de 2004 (Díaz et al. 2008). Estos datos sugieren que el virus West Nile fue introducido en Argentina antes de 2005 y se mantiene naturalmente en focos enzoóticos, con numerosas especies de aves residentes expuestas a la infección a través de la picadura de mosquitos del género *Culex* (Díaz et al. 2008).

Además de las provincias de Córdoba, Tucumán y Chaco, se han detectado evidencias de circulación del virus en aves acuáticas silvestres de la provincia de Entre Ríos (Victoria y Gualaguay) en 2006 (Zaccagnini et al., datos no publicados) y en equinos en las provincias de Salta (Guachipas) en 2008 (MA Morales, com. pers.), Córdoba (Río Cuarto) en 2007 y Buenos Aires (Chascomús) en 2010 (M Barrandeguy, com. pers.).

Nunca podrán determinarse con certeza los mecanismos por los cuales el virus ha sido introducido en Argentina. La dispersión por

Tabla 1. Lista de especies de aves seropositivas para virus West Nile colectadas en las provincias de Tucumán, Córdoba y Chaco durante 2004–2006.

| | |
|---------------------------------|--------------------------------------|
| San Miguel de Tucumán (Tucumán) | |
| | <i>Accipiter erythronemius</i> |
| | <i>Furnarius rufus</i> |
| | <i>Troglodytes musculus</i> |
| | <i>Turdus amaurochalinus</i> |
| | <i>Turdus rufiventris</i> |
| | <i>Agelaioides badius</i> |
| Mar Chiquita (Córdoba) | |
| | <i>Falco sparverius</i> |
| | <i>Zenaida auriculata</i> |
| | <i>Columbina picui</i> |
| | <i>Furnarius rufus</i> |
| | <i>Drymornis bridgesii</i> |
| | <i>Lepidocolaptes angustirostris</i> |
| | <i>Polioptila dumicola</i> |
| | <i>Saltator aurantirostris</i> |
| | <i>Saltator coerulescens</i> |
| | <i>Agelaioides badius</i> |
| Córdoba (Córdoba) | |
| | <i>Falco sparverius</i> |
| | <i>Furnarius rufus</i> |
| | <i>Passer domesticus</i> |
| Montecristo (Córdoba) | |
| | <i>Meleagris gallopavo</i> |
| Monte Alto (Chaco) | |
| | Tyrannidae no identificado |
| | <i>Polioptila dumicola</i> |
| | <i>Turdus amaurochalinus</i> |
| | <i>Turdus rufiventris</i> |
| | <i>Cacicus chrysopterus</i> |

aves migratorias es una hipótesis popular frecuentemente utilizada para explicar procesos de dispersión de patógenos como el virus West Nile y la Influenza (Rappole et al. 2000, Si et al. 2009), aunque relativamente pocas aves migratorias norteamericanas llegan hasta Argentina y las aves migratorias australes son menos que las boreales. Komar y Clark (2006) sugirieron que algunas especies de Charadriiformes como los chorlos y los gaviotines son candidatos para dispersar el virus desde América del Norte hasta América del Sur, ya que desarrollan viremias altas y duraderas, persistiendo el virus ocasionalmente en la piel, y porque vuelan largas distancias. Como fue mencionado en el apartado anterior, estudios de laboratorio determinaron que la infección no interfiere en el proceso fisiológico de la

migración en *Catharus ustulatus* y *Dumetella carolinensis*, las cuales podrían continuar migrando a pesar de estar atravesando períodos de viremia (Owen et al. 2006). Teniendo en cuenta que la viremia en aves es relativamente corta (5–10 días) y más si se considera el período realmente infeccioso para la transmisión del virus, es muy baja la probabilidad de que la dispersión se realice en una sola etapa. Ésta más bien se realizaría secuencialmente (“stepping stone”), utilizando los puntos de descanso de las aves durante los vuelos migratorios como centros de establecimiento y amplificación. En Argentina existen al menos tres rutas principales por las cuales las aves migratorias procedentes del Hemisferio Norte pueden ingresar al territorio (pacífico-andina, amazónica y atlántica). El virus West Nile se extendió desde EEUU hasta América del Sur entre 1999 y 2004 siguiendo un patrón secuencial consistente con la dispersión a través de las aves (Díaz et al. 2008). La introducción en Argentina por aves migratorias podría explicar la presencia del virus en muchos lugares en poco tiempo (Díaz et al. 2008). Sin embargo, las 211 aves migratorias analizadas serológicamente resultaron negativas para el virus West Nile, aunque este dato puede no ser demasiado relevante si se tiene en cuenta que millones de aves migratorias ingresan anualmente a Argentina. Por ejemplo, se ha estimado una abundancia de 500 000 individuos de *Steganopus tricolor* en la región de la laguna de Mar Chiquita (M Nores, com. pers.).

Uno de los grupos de aves que reviste importancia para la conservación debido a la disminución de sus poblaciones silvestres son las rapaces. Recientemente se llevó a cabo una evaluación del estado inmunitario para los virus West Nile y St. Louis Encephalitis en 41 aves rapaces pertenecientes a 17 especies de las familias Accipitridae, Falconidae, Tytonidae y Strigidae residentes en zoológicos de diferentes provincias de Argentina. Este estudio permitió demostrar la circulación viral en rapaces cautivas, con una superposición con las áreas de distribución conocida de los virus (A Quaglia, datos no publicados). Las rapaces en general se encuentran en declinación por la pérdida y transformación del hábitat, la persecución directa, los contaminantes ambientales, el tráfico ilegal y el impacto de enfermedades emergentes. En EEUU, nume-

rosas especies de rapaces demostraron ser susceptibles a la infección por el virus West Nile, el que les ocasiona incluso la muerte (Nemeth et al. 2006). Es necesario continuar la evaluación del estado inmunitario y de la tasa de exposición al virus y la realización de estudios que evalúen la implementación de medidas preventivas como la inmunización de poblaciones naturales y cautivas de rapaces mediante la aplicación de vacunas autorizadas. En EEUU se implementaron programas de esta naturaleza para proteger poblaciones de especies en peligro de extinción como *Grus americana* y *Gymnogyps californianus* (Chang et al. 2007).

Para conocer el rol potencial de las especies de aves autóctonas de Córdoba como hospedadores, se llevaron a cabo inoculaciones experimentales para analizar las viremias desarrolladas y calcular el índice de competencia del hospedador en *Agelaioides badius*, *Columbina picui* y *Molothrus bonariensis*. Solo *Columbina picui* desarrolló viremias elevadas ($10^{3.0-6.2}$ ufp/ml), superiores al UMI para mosquitos del género *Culex*, y con una duración de 4–5 días. El índice de competencia del hospedador de *Columbina picui* fue de 0.56. Si bien no es un índice elevado, el valor indica que estas palomas podrían mantener el virus en la naturaleza. *Agelaioides badius* y *Molothrus bonariensis* desarrollaron viremias cortas (con una duración promedio de 1.0 y 1.5 días, respectivamente) y bajas (entre $10^{2.7-4.9}$ ufp/ml), inferiores al UMI, resultando en un índice de competencia del hospedador de 0 y 0.05, respectivamente (Díaz et al. 2011). Si bien el ciclo del virus es aún desconocido en Argentina y no se conoce qué sucede con otras especies encontradas frecuentemente infectadas (e.g., *Furnarius rufus*, *Turdus amaurochalinus*, *Turdus rufiventris*), todo indica que los individuos de *Columbina picui* podrían actuar como hospedadores de mantenimiento. Lo mismo ocurre para el virus St. Louis Encephalitis, indicando que los dos virus podrían compartir hospedadores aviares en Argentina (Díaz 2009). Esto podría llevar a una interacción entre estos flavivirus relacionados antigénicamente, causando el desplazamiento de uno por el otro, como se especula que ocurre en el sur de California, en EEUU (Reisen et al. 2008).

Es interesante mencionar que durante los ensayos de viremia no se observó mortalidad en los individuos inoculados, a pesar de

emplearse una cepa epizootica aislada de cerebro de equino muerto (Morales et al. 2006) que pertenece al mismo grupo filogenético de la cepa patógena para aves, equinos y humanos (NY99; Fabbri et al. 2008). Estos resultados indican que las aves residentes de Argentina son infectadas por el virus pero no se enferman, lo que explicaría la ausencia de eventos de mortandad aviar por este virus en el país. Para confirmar esta hipótesis se deberá continuar con los ensayos de inoculación experimental para ampliar el número de especies analizadas y conocer su susceptibilidad a la infección viral. Es probable que, como sucede en EEUU donde aves localmente abundantes actúan como hospedadores amplificadores, en Argentina las especies comunes (colúmbidos, furnáridos y túrdidos) puedan ser hospedadores competentes, jugando un rol importante en la transmisión del virus.

Argentina es uno de los pocos países, junto a EEUU, en que se han podido aislar cepas de equinos enfermos. Previamente se habían podido recuperar cepas en México (Loroño-Pino et al. 2003) y Puerto Rico (Hunsperger et al. 2009). Por otra parte, son pocos los datos disponibles respecto a la actividad del virus en humanos en Argentina, aunque se han registrado casos de encefalitis por este virus en las provincias de Buenos Aires (tres casos), Chaco (tres casos), Córdoba (un caso) y Entre Ríos (un caso) en 2006 y en Córdoba (un caso probable), Formosa (un caso confirmado y uno probable) y Santa Fe (un caso) en 2007 (MA Morales, com. pers.).

A la luz de las evidencias existentes, el virus West Nile en Argentina posee un comportamiento diferente al de EEUU, caracterizándose por una marcada actividad enzoótica, amplia distribución geográfica y baja patogenicidad para aves, equinos y humanos. Estas características son distintas de las del evento epizootico registrado en la provincia de Buenos Aires (Morales et al. 2006), que representa un fenómeno aislado cuando se lo compara con las evidencias obtenidas en las otras regiones del país con circulación endémica, siendo aún desconocidas las causas.

CONCLUSIONES

Debido a su reciente introducción y a la falta de investigaciones sobre vectores y hospedadores, la ecoepidemiología del virus West Nile

en Argentina es desconocida. Sin embargo, es evidente que su comportamiento difiere de lo observado en EEUU. Una de las principales diferencias es la ausencia de epizootias en equinos y aves silvestres y de epidemias en poblaciones humanas, algo similar a lo que ocurre en otros países de América Central, el Caribe y América del Sur. Se desconocen las causas de estas diferencias, pero podrían deberse a la falta de mosquitos vectores y aves hospedadores eficientes para la amplificación del virus, a la circulación de cepas virales de virulencia leve para humanos y fauna en general, a la protección cruzada debido a la existencia de flavivirus relacionados antigénicamente (Ilheus, Bussuquara, St. Louis Encephalitis, Dengue, Fiebre Amarilla) y a la presencia de un escenario en el cual la actividad viral se vería diluida por un ensamble más diverso de hospedadores y vectores. Algunos tópicos importantes sobre la relación de este virus y las aves silvestres que se deberían estudiar se detallan a continuación.

(1) Caracterizar biológica y molecularmente las cepas circulantes. Esto permitirá conocer el carácter patogénico y virulento de las cepas sobre la biota autóctona. Además, la caracterización molecular asociada con estudios de distribución geográfica (filogeografía) podría ayudar a elaborar hipótesis acerca de las vías de introducción del virus en Argentina.

(2) Identificar las especies de aves hospedadores del virus.

(3) Evaluar el potencial patogénico del virus sobre el estado sanitario de las poblaciones silvestres de aves, en particular de aquellas con distribución geográfica restringida, con poblaciones amenazadas y en peligro. Este aspecto se debe evaluar en forma conjunta con el estado sanitario del ecosistema donde habitan estas poblaciones vulnerables.

(4) Analizar los procesos de interacción ecológica e inmunológica entre virus relacionados. La coexistencia en tiempo y espacio de virus relacionados antigénicamente, como es el caso de los virus West Nile y St. Louis Encephalitis, podría provocar la existencia de procesos de competencia entre patógenos, lo que influiría en sus comportamientos ecoepidemiológico y en los hospedadores, los vectores y la población humana.

(5) El cambio climático y la modificación del paisaje provocados por la actividad humana

generan alteraciones del ambiente, de la dinámica y de la composición de las comunidades biológicas asociadas. Estudiar cómo influyen estos cambios sobre el comportamiento del virus West Nile y de otros virus transmitidos por mosquitos es uno de los aspectos de mayor interés en la actualidad.

Como se refleja en este trabajo, es imperante el diseño y puesta en marcha de proyectos interdisciplinarios integrales que aborden aspectos de la ecología, biología y epidemiología del virus West Nile en Argentina. Diferentes actores sociales integrantes de organismos públicos (nacionales, provinciales, municipales), organizaciones no gubernamentales locales e internacionales, zoológicos, institutos de investigación y universidades deben aunar sus esfuerzos de manera coordinada para la realización de estos proyectos que deben ser mantenidos en el tiempo, de manera tal que se pueda conocer a ciencia cierta el comportamiento ecoepidemiológico de este nuevo patógeno viral y su influencia sobre la biota.

Los sistemas de salud, a través de los años, nos han enseñado las ventajas de la prevención por sobre la cura o tratamiento de las enfermedades desde una perspectiva humana, ética y económica. Solo el conocimiento certero obtenido de la investigación seria y responsable podrá brindar las herramientas necesarias para la implementación futura de sistemas de vigilancia y prevención eficientes. Es necesario profundizar la participación de diferentes áreas científicas en el estudio de las virosis de importancia para la conservación de la fauna silvestre.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer en particular la colaboración de Sabrina María Molina por las ilustraciones, a M. Saggese por sus valiosos comentarios y revisión preliminar de los contenidos y a la Fundación Félix de Azara. LAD pertenece a la Carrera del Investigador del CONICET. AQ y FSF son estudiantes del doctorado en Ciencias Biológicas (FCEfYN, UNC) y becarios doctorales del CONICET. Las investigaciones citadas realizadas por los autores han recibido financiamiento por parte de CONICET, SECyT-UNC, FONCyT (PICT 38060), The Schubot Exotic Bird Health Center, College of Veterinary Medicine, Texas A&M University.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ALVES ARAUJO FA, TEIXEIRA VRS, VIEIRA DE ANDRADE FILHO G, LEMOS MELHADO D, TODESCHINI B, CAVALCANTI E, CAVALCANTE G, FEDRIZZI C, MAGALHAES V, SCHERER A, BARRETO DE ALMEIDA M, DE SOUZA PORTELLA A, DOS SANTOS E, SHERER S, DORETTO L, CARICIO MARTINS L, GUERREIRO RODRIGUEZ S Y DA COSTA VASCONCELOS P (2004) Segundo inquérito sorológico em aves migratórias e residentes do Parque Nacional da Lagoa do Peixe/RS para detecção do vírus do Nilo Ocidental e outros vírus. *Boletim Eletrônico Epidemiológico* 4:1-8
- ANDERSON JF, ANDREADIS TG, VOSSBRINCK CR, TIRRELL S, WAKEM EM, FRENCH RA, GARMENDIA AE Y VAN KRUIINGEN HJ (1999) Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut. *Science* 286:2331-2333
- APPERSON CS, HARRISON BA, UNNASCH TR, HASSAN HK, IREY WS, SAVAGE HM, ASPEN SE, WATSON DW, RUEDA LM, ENGBER BR Y NASCI RS (2002) Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identification of *Culex* mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* 39:777-785
- APPERSON CS, HASSAN HK, HARRISON BA, SAVAGE HM, ASPEN SE, FARAJOLLAHI A, CRANS W, DANIELS TJ, FALCO RC, BENEDICT M, ANDERSON M, McMILLEN L Y UNNASCH TR (2004) Host feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile virus in the eastern United States. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 4:71-82
- BAKONYI T, HUBÁLEK Z, RUDOLF I Y NOWOTNY N (2005) Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerging Infectious Diseases* 11:225-231
- BEASLY DW, LI L, SUDERMAN MT Y BARRET AD (2002) Mouse neuroinvasive phenotype of West Nile Virus strains varies depending upon virus genotype. *Virology* 296:17-23
- BELDOMENICO PM Y BEGON M (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends in Ecology and Evolution* 25:21-27
- BELDOMENICO PM, TELFER S, GEBERT S, LUKOMSKI L, BENNETT M Y BEGON M (2008) The dynamics of health in wild field vole populations: a haematological perspective. *Journal of Animal Ecology* 77:984-997
- BERNKOPF H, LEVINE S Y NERSON R (1953) Isolation of West Nile virus in Israel. *Journal of Infectious Diseases* 93:207-218
- BERTHET FX, ZELLER HG, DROUET MT, RAUZIER J, DIGOUTTE JP Y DEUBEL V (1997) Extensive nucleotide changes and deletions within the envelope glycoprotein gene of Euro-African West Nile viruses. *Journal of General Virology* 78:2293-2297

- BEVEROTH TA, WARD MP, LAMPMAN RL, RINGIA AM Y NOVAK RJ (2006) Changes in seroprevalence of West Nile virus across Illinois in free-ranging birds from 2001 through 2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 74:174–179
- BIN H, GROSSMAN Z, POKAMUNSKI S, MALKINSON M, WEISS L, DUVDEVANI P, BANET C, WEISMANN Y, ANNIS E, GANDAKU D, YAHALOM V, HINDYIEH M, SHULMAN L Y MENDELSON E (2001) West Nile fever in Israel 1999–2000: from geese to humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951:127–142
- BLITVICH BJ (2008) Transmission dynamics and changing epidemiology of West Nile Virus. *Animal Health Research Reviews* 9:71–86
- BLITVICH BJ, FERNÁNDEZ-SALAS I, CONTRERAS-CORDERO JE, MARLENEE NL, GONZÁLEZ-ROJAS JI, KOMAR N, GUBLER DJ, CALISHER CH Y BEATY BJ (2003) Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Coahuila State, Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 9:853–856
- BONDRE VP, JADI RS, MISHRA AC, YERGOLKAR PN Y ARANKALLE VA (2007) West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *Journal of General Virology* 88:875–884
- BONTER DN Y HOCHACHKA WM (2003) Combined data of Project FeederWatch and the Christmas Bird Count indicate declines of chickadees and corvids: possible impacts of West Nile virus. *American Birds* 57:22–25
- BOSCH I, HERRERA F, NAVARRO JC, LENTINO M, DUPUIS A, MAFFERI J, JONES M, FERNÁNDEZ E, PÉREZ N, PÉREZ-EMÁN J, GUIMARAES AE, BARRERA R, VALERO N, RUIZ J, VELÁSQUEZ G, MARTÍNEZ J, COMACH G, KOMAR N, SPIELMAN A Y KRAMER L (2007) West Nile virus, Venezuela. *Emerging Infectious Diseases* 13:651–653
- BOWEN RA Y NEMETH NM (2007) Experimental infections with West Nile Virus. *Current Opinion in Infectious Disease* 20:293–297
- BRAULT AC, HUANG CYH, LANGEVIN SA, KINNEY RM, BOWEN RA, RAMEY WN, PANELLA NA, HOLMES EC, POWERS AM Y MILLER BR (2007) A single positively selected West Nile viral mutation confers increased virogenesis in American Crows. *Nature Genetics* 39:1162–1166
- BRAULT AC, LANGEVIN SA, BOWEN RA, PANELLA NA, BIGGERSTAFF BJ, MILLER BR Y KOMAR N (2004) Differential virulence of West Nile strains for American Crows. *Emerging Infectious Diseases* 10:2161–2168
- BRINTON MA (2002) The molecular biology of West Nile Virus: a new invader of the Western Hemisphere. *Annual Review of Microbiology* 56:371–402
- CAFFREY C (2003) Determining impacts of West Nile virus on crows and other birds. *American Birds* 57:12–13
- CAFFREY C, SMITH SCR Y WESTON TJ (2005) West Nile virus devastates an American Crow population. *Condor* 107:128–132
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2002a) Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding – Michigan, 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:877–878
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2002b) Laboratory-acquired West Nile virus infections – United States, 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1133–1135
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2002c) Intrauterine West Nile virus infection – New York, 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51:1135–1136
- CHANG GJ, DAVIS BS, STRINGFIELD C Y LUTZ C (2007) Prospective immunization of the endangered California condors (*Gymnogyps californianus*) protects this species from lethal West Nile Virus infection. *Vaccine* 25:2325–2330
- CRUZ L, CARDENAS VM, ABARCA M, RODRÍGUEZ T, REYNA RE, SERPAS MV, FONTAINE RE, BEASLEY DW, DA ROSA AP, WEAVER SC, TESH RB, POWERS AM Y SUÁREZ-RANGEL G (2005) Serological evidence of West Nile virus activity in El Salvador. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 72:612–615
- DAVIS CT, EBEL GD, LANCIOTTI RS, BRAULT AC, GUZMAN H, SIIRIN M, LAMBERT A, PARSONS RE, BEASLEY DW, NOVAK RJ, ELIZONDO-QUIROGA D, GREEN EN, YOUNG DS, STARK LM, DREBOT MA, ARTSOB H, TESH RB, KRAMER LD Y BARRETT AD (2005) Phylogenetic analysis of North American West Nile virus isolates, 2001–2004: evidence for the emergence of a dominant genotype. *Virology* 342:252–265
- DAVIS CT, LI L, MAY FJ, BUENO R JR, DENNETT JA, BALA AA, GUZMAN H, QUIROGA-ELIZONDO D, TESH RB Y BARRETT AD (2007) Genetic stasis of dominant West Nile virus genotype, Houston, Texas. *Emerging Infectious Diseases* 13:601–604
- DEARDORFF E, ESTRADA-FRANCO J, BRAULT A, NAVARRO-LÓPEZ R, CAMPOMANES-CORTÉS A, PAZ-RAMÍREZ P, SOLÍS-HERNÁNDEZ M, RAMEY W, DAVIS C, BEASLEY D, TESH R, BARRETT A Y WEAVER S (2006) Introductions of West Nile virus strains to Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 12:314–318
- DIAMOND MS (2009a) Progress on the development of the therapeutic against West Nile Virus. *Antiviral Research* 83:214–227
- DIAMOND MS (2009b) Virus and host determinants of West Nile Virus pathogenesis. *PLoS Pathogens* 5:e1000452
- DIAMOND MS, MEHLHOP E, OLIPHANT T Y SAMUEL MA (2009) The host immunologic response to West Nile virus. *Frontiers in Bioscience* 14:3024–3040
- DÍAZ LA (2009) *Patrones de actividad y estacionalidad del virus St. Louis Encephalitis en Córdoba, Argentina*. Tesis doctoral, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba
- DÍAZ LA, FLORES FS Y CONTIGIANI MS (2011) Viremia profiles and host competence index for West Nile virus (Flavivirus, Flaviviridae) in three autochthonous birds species from Argentina. *Journal of Ornithology* 152:21–25

- DÍAZ LA, KOMAR N, VISINTIN A, DANTUR JURI MJ, STEIN M, LOBO ALLENDE R, SPINSANTI L, KONIGHEIM B, AGUILAR J, LAURITO M, ALMIRÓN W Y CONTIGIANI M (2008) West Nile virus in birds, Argentina. *Emerging Infectious Diseases* 14:689–691
- DOHM DJ, O'GUINN ML Y TURELL MJ (2002) Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *Journal of Medical Entomology* 39:221–225
- DUPUIS AP II, MARRA PP Y KRAMER LD (2003) Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerging Infectious Diseases* 9:860–863
- DUPUIS AP II, MARRA PP, REITSMA R, JONES MJ, LOUIE KL Y KRAMER LD (2005) Serologic evidence for West Nile virus transmission in Puerto Rico and Cuba. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 73:474–476
- EBEL GD, CARRICABURU J, YOUNG D, BERNARD KA Y KRAMER LD (2004) Genetic and phenotypic variation of West Nile virus in New York, 2000–2003. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 71:493–500
- EIDSON M, KRAMER L, STONE W, HAGIWARA Y, SCHMIT K, BACKENSON B, BERNARD K, CHANG HG, DUPUIS A, EBEL G, GOTHAM I, JONES S, KAUFFMAN E, MORSE D, NAPOLI J, SMITH P, TRIMARCHI C, WALLACE B, WHITE D Y WILSEY A (2001) Dead bird surveillance as an early warning system for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* 7:631–635
- ELLIS AE, MEAD DG, ALLISON AB, STALLKNECHT DE Y HOWERTH EW (2007) Pathology and epidemiology of natural West Nile viral infection of raptors in Georgia. *Journal of Wildlife Diseases* 43:214–223
- EPSTEIN PR (2001) West Nile virus and the climate. *Journal of Urban Health* 78:367–371
- ERDÉLYI K, ÚRSU K, FERENCZI E, SZEREDI L, RÁTZ F, SKÁRE J Y BAKONYI T (2007) Clinical and pathologic features of Lineage 2 West Nile Virus infection in birds of prey in Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 7:181–188
- ESTRADA-FRANCO JG, NAVARRO-LÓPEZ R, BEASLEY DW, COFFEY L, CARRARA AS, TRAVASSOS DA ROSA A, CLEMENTS T, WANG E, LUDWIG GV, CORTÉS AC, RAMÍREZ PP, TESH RB, BARRETT AD Y WEAVER SC (2003) West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerging Infectious Diseases* 9:1604–1607
- FABBRI C, GARCÍA J, MORALES MA, LEVIS S, ENRÍA D Y LANCIOTTI R (2008) Secuenciación genómica completa y análisis filogenético de dos cepas de virus WN aisladas en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 40 (Supl. 1):56
- FAIRBROTHER A, SMITS J Y GRASMAN KA (2004) Avian immunotoxicology. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews* 7:105–137
- FARAJOLLAHI A, CRANS WJ, NICKERSON D, BRYANT P, WOLF B, GLASER A Y ANDREADIS TG (2005) Detection of West Nile virus RNA from the louse fly *Icosta americana* (Diptera: Hippoboscidae). *Journal of the American Mosquito Control Association* 21:474–476
- FARFÁN-ALE JA, BLITVICH BJ, LOROÑO-PINO MA, MARLENEE NL, ROSADO-PAREDES EP, GARCÍA-REJON JE, FLORES-FLORES LF, CHULIM-PERERA L, LÓPEZ-URIBE M, PÉREZ-MENDOZA G, SANCHEZ-HERRERA I, SANTAMARÍA W, MOO-HUCHIM J, GUBLER DJ, CROPP BC, CALISHER CH Y BEATY BJ (2004) Longitudinal studies of West Nile virus infection in avians, Yucatán State, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 4:3–14
- FERNÁNDEZ-SALAS I, CONTRERAS-CORDERO JF, BLITVICH BJ, GONZÁLEZ-ROJAS JI, CAVAZOS-ÁLVAREZ A, MARLENEE NL, ELIZONDO-QUIROGA A, LOROÑO-PINO MA, GUBLER DJ, CROPP BC, CALISHER CH Y BEATY BJ (2003) Serologic evidence of West Nile Virus infection in birds, Tamaulipas State, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 3:209–213
- FORERO MG, GONZÁLEZ-SOLÍS J, IGUAL JM, HOBSON K, RUIZ X Y VISCOR G (2006) Ecological and physiological variance in T-cell mediated immune response in Cory's Shearwaters. *Condor* 108:865–876
- GIBBS SE, ALLISON AB, YABSLEY MJ, MEAD DG, WILCOX BR Y STALLKNECHT DE (2006) West Nile virus antibodies in avian species of Georgia, USA: 2000–2004. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 6:57–72
- GODDARD LB, ROTH AE, REISEN WK Y SCOTT TW (2002) Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* 8:1385–1391
- GOLDBLUM N, JASINSKA-KLINGBERG W, KLINGBERG MA, MARBERG K Y STERK VV (1956) The natural history of West Nile Fever. I. Clinical observations during an epidemic in Israel. *American Journal of Hygiene* 64:259–269
- GUBLER DJ (2007) The continuing spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Clinical Infectious Diseases* 45:1039–1046
- GUBLER DJ, CAMPBELL GL, NASCI R, KOMAR N, PETERSEN L Y ROEHRIG JT (2000) West Nile virus in the United States: guidelines for detection, prevention and control. *Viral Immunology* 13:469–475
- HAHN DC, NEMETH NM, EDWARDS E, BRIGHT PR Y KOMAR N (2006) Passive West Nile Virus antibody transfer from maternal Eastern Screech-Owls (*Megascops asio*) to progeny. *Avian Diseases* 50:454–455
- HALL RA (2000) The emergence of West Nile virus: the Australian connection. *Viral Immunology* 13:447–461
- HAN LL, POPOVICI F, ALEXANDER JP JR, LAURENTIA V, TENGELSEN LA, CERNESCU C, GARY HE JR, IONNEDELCU N, CAMPBELL GL Y TSAI TF (1999) Risk factors for West Nile virus infection and meningoencephalitis, Romania, 1996. *Journal of Infectious Diseases* 179:230–233
- HANNOUN C, PANTHIER R, MOUCHET J Y EOZAN JP (1964) Isolation in France of the West Nile virus from patients and from the vector *Culex modestus ficalbi*. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences* 259:4170–4172
- HAYES CG (2001) West Nile virus: Uganda, 1937, to New York City, 1999. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951:25–37

- HAYES EB, KOMAR N, NASCI RS, MONTGOMERY SP, O'LEARY DR Y CAMPBELL GL (2005) Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerging Infectious Diseases* 11:1167–1173
- HERSHKOVITZ O, ROSENAL B, ROSENBERG L, NAVARRO-SÁNCHEZ M, JIVOV S, ZILKA A, GERSHONI-YAHALOM O, BRIENT-LITZLER E, BEDOUELLE H, HO J, CAMPBELL K, RAGER-ZISMAN B, DESPRES P Y PORGADOR A (2009) NKp44 receptor mediates interaction of the envelope glucoprotein from the West Nile and Dengue viruses with NK cells. *Journal of Immunology* 183:2610–2621
- HOCHACHKA WM, DHONDT AA, MCGOWAN KJ Y KRAMER LD (2004) Impact of West Nile virus on American Crows in the northeastern United States, and its relevance to existing monitoring programs. *EcoHealth* 1:60–68
- HÖFLE U, BLANCO JM, CRESPO E, NARANJO V, JIMÉNEZ-CLAVERO M, SÁNCHEZ A, DE LA FUENTE J Y GORTAZAR C (2008) West Niles Virus in the endangered Spanish Imperial Eagle. *Veterinary Microbiology* 129:171–178
- HUBÁLEK Z (2000) European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? *Viral Immunology* 13:415–426
- HUBÁLEK Z Y HALOUZKA J (1999) West Nile fever — a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases* 5:643–650
- HUNSPERGER EA, MCELROY KL, BESSOFF K, COLÓN C, BARRERA R Y MUÑOZ-JORDÁN JL (2009) West Nile virus from blood donors, vertebrates, and mosquitoes, Puerto Rico, 2007. *Emerging Infectious Diseases* 15:1298–1300
- ICTV (2011) *Virus taxonomy*. International Committee on Taxonomy of Viruses (URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/00.026.0.01.htm>)
- IWAMOTO M, JERNIGAN DB, GUASCH A, TREPKA MJ, BLACKMORE CG, HELLINGER WC, PHAM SM, ZAKI S, LANCIOTTI RS, LANCE-PARKER SE, DÍAZ GRANADOS CA, WINQUIST AG, PERLINO CA, WIERSMA S, HILLYER KL, GOODMAN JL, MARFIN AA, CHAMBERLAND ME Y PETERSEN LR (2003) Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *New England Journal of Medicine* 348:2196–2203
- JULIAN KG, EIDSON M, KIPP AM, WEISS E, PETERSEN LR, MILLER JR, HINTEN SR Y MARFIN AA (2002) Early season crow mortality as a sentinel for West Nile virus disease in humans, northeastern United States. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2:145–155
- JUPP PG (2001) The ecology of West Nile virus in South Africa and the occurrence of outbreaks in humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951:143–152
- KILPATRICK AM, KRAMER LD, CAMPBELL SR, ALLEYNE EO, DOBSON AP Y DASZAK P (2005) West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm. *Emerging Infectious Diseases* 11:425–429
- KILPATRICK AM, KRAMER LD, JONES MJ, MARRA PP Y DASZAK P (2006) West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *PLoS Biology* 4:e82
- KILPATRICK AM, LADEAU SL Y MARRA PP (2007) The ecology and impact of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Auk* 124:1121–1136
- KILPATRICK AM, MEOLA MA, MOUDY RM Y KRAMER LD (2008) Temperature, viral genetics, and the transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* mosquitoes. *PLoS Pathogens* 4:e1000092
- KIPP AM, LEHMAN JA, BOWEN RA, FOX PE, STEPHENS MR, KLENK K, KOMAR N Y BUNNING ML (2006) West Nile virus quantification in feces of experimentally infected American and fish crows. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 75:688–690
- KOMAR N (2003) West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Advances in Virus Research* 61:185–234
- KOMAR N, BURNS J, DEAN C, PANELLA NA, DUSZA S Y CHERRY B (2001) Serologic evidence for West Nile virus infection in birds in Staten Island, New York, after an outbreak in 2000. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 1:191–196
- KOMAR N Y CLARK GG (2006) West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Revista Panamericana de Salud Pública* 19:112–117
- KOMAR N, LANGEVIN S, HINTEN S, NEMETH N, EDWARDS E, HETTLER D, DAVIS B, BOWEN R Y BUNNING M (2003a) Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* 9:311–322
- KOMAR N, PANELLA NA, LANGEVIN SA, BRAULT AC, AMADOR M, EDWARDS E Y OWEN JC (2005a) Avian hosts for West Nile virus in St. Tammany Parish, Louisiana, 2002. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 73:1031–1037
- KOMAR O, ROBBINS MB, CONTRERAS GG, BENZ BW, KLENK K, BLITVICH BJ, MARLENEE NL, BURKHALTER KL, BECKETTS S, GONZALVEZ G, PEÑA CJ, PETERSON AT Y KOMAR N (2005b) West Nile virus survey of birds and mosquitoes in the Dominican Republic. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 5:120–126
- KOMAR O, ROBBINS MB, KLENK K, BLITVICH BJ, MARLENEE NL, BURKHALTER K, GUBLER D, GONZALVEZ G, PEÑA C, PETERSON A Y KOMAR N (2003b) West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerging Infectious Diseases* 9:1299–1302
- KRAMER LD, STYER LM Y EBEL GD (2007) A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annual Review of Entomology* 53:61–81
- LADEAU SL, KILPATRICK AM Y MARRA PP (2007) West Nile Virus emergence and large-scale declines of North American bird population. *Nature* 44:710–714
- LANCIOTTI RS, ROEHRIG JT, DEUBEL V, SMITH J, PARKER M, STEELE K, CRISE B, VOLPE KE, CRABTREE MB, SCHERRET JH, HALL RA, MACKENZIE JS, CROPP CB, PANIGRAPHY B, OSTLUND E, SCHMITT B, MALKINSON M, BANET C, WEISSMAN J, KOMAR N, SAVAGE HM, STONE W, McNAMARA T Y GUBLER DJ (1999) Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 286:2333–2337

- LANGEVIN SA, BRAULT AC, PANELLA NA, BOWEN RA Y KOMAR N (2005) Variation in virulence of West Nile virus strains for house sparrows (*Passer domesticus*). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 72:99–102
- LEFRANÇOIS T, BLITVICH BJ, PRADELL J, MOLIA S, VACHIÉRY N Y MARTÍNEZ D (2006) West Nile virus in Guadeloupe. Introduction, spread, and decrease in circulation level: 2002–2005. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1081:206–215
- LE GUENNO B, BOUGERMOUH A, AZZAM T Y BOUAKAZ R (1996) West Nile: a deadly virus? *Lancet* 348:1315
- LINDENBACH BD, THIEL H-J Y RICE CM (2007) Flaviviridae: the viruses and their replication. Pp. 1101–1152 en: KNIPE DM Y HOWLEY PM (eds) *Fields virology*. Quinta edición. Lippincott-Raven, Philadelphia
- LOROÑO-PINO MA, BLITVICH BJ, FARFAN-ALE JA, PUERTO FI, BLANCO JM, MARLENEE NL, ROSADO-PAREDES EP, GARCÍA-REJON JE, GUBLER DJ, CALISHER CH Y BEATY BJ (2003) Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Yucatán State, Mexico. *Emerging Infectious Diseases* 9:857–859
- MALKINSON M Y BANET C (2002) The role of birds in the ecology of West Nile virus in Europe and Africa. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 267:309–322
- MALKINSON M, BANET C, WEISMAN Y, POKAMUNSKI S, KING R, DROUET MT Y DEUBEL V (2002) Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerging Infectious Diseases* 8:392–397
- MATHER T, TAKEDA T, TASSELLO J, OHAGEN A, SEREBRYANIK D, KRAMER E, BROWN F, TESH R, ALFORD B, CHAPMAN J Y LAZO A (2003) West Nile virus in blood: stability, distribution, and susceptibility to PEN110 inactivation. *Transfusion* 43:1029–1037
- MATTAR S, EDWARD E, LAGUADO J, GONZÁLEZ M, ÁLVAREZ J Y KOMAR N (2005) West Nile virus antibodies in Colombian horses. *Emerging Infectious Diseases* 11:1497–1498
- MCLEAN RG Y UBICO SR (2007) Arboviruses in birds. Pp. 17–62 en: THOMAS CJ, HUNTER DB Y ATKINSON CT (eds) *Infectious diseases of wild birds*. Wiley-Blackwell, Ames
- MCLEAN RG, UBICO SR, DOCHERTY DE, HANSEN WR, SILEO L Y MCNAMARA TS (2001) West Nile virus transmission and ecology in birds. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951:54–57
- MEDICA DL, CLAUSER R Y BILDSTEIN K (2007) Prevalence of West Nile Virus antibodies in breeding population of American Kestrel (*Falco sparverius*) in Pennsylvania. *Journal of Wildlife Diseases* 43:538–541
- MORALES MA, BARRANDEGUY M, FABBRI C, GARCÍA JB, VISSANI A, TRONO K, GUTIÉRREZ G, PIGRETTI S, MENCHACA H, GARRIDO N, TAYLOR N, FERNÁNDEZ F, LEVIS S Y ENRÍA D (2006) West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerging Infectious Diseases* 12:1559–1561
- MORALES-BETOULLE ME, MORALES H, BLITVICH BJ, POWERS AM, DAVIS EA, KLEIN R Y CORDÓN-ROSALES C (2006) West Nile virus in horses, Guatemala. *Emerging Infectious Diseases* 12:1038–1039
- MOSTASHARI F, KULLDORFF M, HARTMAN JJ, MILLER JR Y KULASEKERA V (2003) Dead bird clusters as an early warning system for West Nile virus activity. *Emerging Infectious Diseases* 9:641–646
- MOUDY RM, MEOLA MA, MORIN LL, EBEL GD Y KRAMER LD (2007) A newly emergent genotype of West Nile virus is transmitted earlier and more efficiently by *Culex* mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 77:365–370
- MUKHOPADHYAY S, KIM BS, CHIPMAN PR, ROSSMANN MG Y KUHN RJ (2003) Structure of West Nile virus. *Science* 302:248
- MUMCUOGLU KY, BANET-NOACH C, MALKINSON M, SHALOM U Y GALUN R (2005) Argasid ticks as possible vectors of West Nile virus in Israel. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 5:65–71
- NASCI RS, SAVAGE HM, WHITE DJ, MILLER JR, CROPP BC, GODSEY MS, KERST AJ, BENNETT P, GOTTFRIED K Y LANCIOTTI RS (2001) West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerging Infectious Diseases* 7:742–744
- NASH D, MOSTASHARI F, FINE A, MILLER J, O'LEARY D, MURRAY K, HUANG A, ROSENBERG A, GREENBERG A, SHERMAN M, WONG S Y LAYTON M (2001) The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *New England Journal of Medicine* 344:1807–1814
- NAUGLE DE, ALDRIDGE CL, WALKER BL, CORNISH TE, MOYNAHAN BJ, HOLLORAN MJ, BROWN K, JOHNSON GD, SCHMIDTMANN ET, MAYER RT, KATO CY, MATCHETT MR, CHRISTIANSEN TJ, COOK WE, CREEK-MORE T, FALISE RD, RINKES ET Y BOYCE MS (2004) West Nile virus: pending crisis for Greater Sage-Grouse. *Ecology Letters* 7:704–713
- NEMETH N, BECKETTS S, EDWARDS E, KLENK K Y KOMAR N (2007a) Avian mortality surveillance for West Nile virus in Colorado. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76:431–437
- NEMETH N, GOULD D, BOWEN R Y KOMAR N (2006) Natural and experimental West Nile Virus infection in five raptor species. *Journal of Wildlife Diseases* 42:1–13
- NEMETH NM, KRATZ GE, BATES R, SCHERPELZ JA, BOWEN RA Y KOMAR N (2008a) Naturally induced humoral immunity to West Nile virus infection in raptors. *EcoHealth* 5:298–304
- NEMETH N, KRATZ G, EDWARDS E, SCHERPELZ J, BOWEN R Y KOMAR N (2007b) Surveillance for West Nile Virus in clinic-admitted raptors, Colorado. *Emerging Infectious Diseases* 13:305–307
- NEMETH NM, OESTERLE PT Y BOWEN RA (2008b) Passive immunity to West Nile virus provides limited protection in a common passerine species. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 79:283–290

- NEMETH NM, OESTERLE PT Y BOWEN RA (2009) Humoral immunity to West Nile Virus is long-lasting and protective in House Sparrow (*Passer domesticus*). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 80:864–869
- NUSBAUM KE, WRIGHT JC, JOHNSTON WB, ALLISON AB, HILTON CD, STAGGS LA, STALLKNWCHT DE Y SHELNUTT J (2003) Absence of humoral response in Flamingos and Red-Tailed hawks to experimental vaccination with a killed West Nile vaccine. *Avian Diseases* 47:750–752
- O'LEARY DR, NASCI RS, CAMPBELL GL Y MARFIN AA (2002) West Nile virus activity — United States, 2001. *Journal of the American Medical Association* 288:158–159
- OSTLUND EN, CROM RL, PEDERSEN DD, JOHNSON DJ, WILLIAMS WO Y SCHMITT BJ (2001) Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerging Infectious Diseases* 7:665–669
- OWEN J, MOORE F, PANELLA N, EDWARDS E, BRU R, HUGHES M Y KOMAR N (2006) Migrating birds as dispersal vehicles for West Nile virus. *EcoHealth* 3:79–85
- PANTHIER R, HANNOUN C, BEYTOUT D Y MOUCHET J (1968) Epidemiology of West Nile virus. Study of a center in Camargue. 3. Human diseases. *Annales de l'Institut Pasteur* 115:435–445
- PAUVOLID-CORRÊA A, MORALES MA, LEVIS S, FIGUEIREDO LT, COUTO-LIMA D, CAMPOS Z, NOGUEIRA MF, DA SILVA EE, NOGUEIRA RM Y SCHATZMAYR HG (2011) Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 106:467–474
- PETERSEN LR Y HAYES EB (2008) West Nile virus in the Americas. *Medical Clinics of North America* 92:1307–1322
- PETERSEN LR Y ROEHRIG JT (2001) West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerging Infectious Diseases* 7:611–614
- PETERSON AT, VIEGLAIS DA Y ANDREASEN JK (2003) Migratory birds modeled as critical transport agents for West Nile Virus in North America. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 3:27–37
- PHALEN DN Y DAHLHAUSEN B (2004) West Nile Virus. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 13:67–78
- PLATONOV AE, SHIPULIN GA, SHIPULINA OY, TYUTYUNNIK EN, FROLOCHKINA TI, LANCIOTTI RS, YAZYSHINA S, PLATONOVA OV, OBUKHOV IL, ZHUKOV AN, VENGEROV YY Y POKROVSKII VI (2001) Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerging Infectious Diseases* 7:128–132
- POLLOCK CG (2008) West Nile Virus in the Americas. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 22:151–157
- PRILIPOV AG, KINNEY RM, SAMOKHVALOV EI, SAVAGE HM, AL'KHOVSKII SV, TSUCHIYA KR, GROMASHEVSKII V, SADYKOVA G, SHATALOV A, VYSHEMIRSKII O, USACHEV E, MOKHONOV V, VORONINA A, BUTENKO A, LARICHEV V, ZHUKOV A, KOVTUNOV A, GUBLER D Y L'VOV DK (2002) Analysis of new variants of West Nile fever virus. *Voprosy Virusologii* 47:36–41
- PUPU M, GUZMÁN MG, FERNÁNDEZ R, LLOPA A, DICKINSON FO, PÉREZ D, CRUZ R, GONZÁLEZ T, ESTÉVEZ G, GONZÁLEZ H, SANTOS P, KOURÍ G, ANDONOVA M, LINDSAY R, ARTSOB H Y DREBOT M (2006) West Nile Virus infection in humans and horses, Cuba. *Emerging Infectious Diseases* 12:1022–1024
- QUIRIN R, SALAS M, ZIENTARA S, ZELLER H, LABIE J, MURRI S, LEFRANÇOIS T, PETITCLERC M Y MARTÍNEZ D (2004) West Nile virus, Guadeloupe. *Emerging Infectious Diseases* 10:706–708
- RAMOS C Y FALCÓN LEZAMA JA (2004) West Nile fever: an emerging disease in Mexico. *Salud Pública de México* 46:488–490
- RAPPOLE JH, COMPTON BW, LEIMGRUBER P, ROBERTSON J, KING DI Y RENNER SC (2006) Modeling movement of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 6:128–139
- RAPPOLE JH, DERRICKSON SR Y HUBÁLEK Z (2000) Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerging Infectious Diseases* 6:319–328
- REISEN WK, FANG Y Y MARTÍNEZ VM (2005) Avian host and mosquito (Diptera: Culicidae) vector competence determine the efficiency of West Nile and St. Louis encephalitis virus transmission. *Journal of Medical Entomology* 42:367–375
- REISEN WK, FANG Y Y MARTÍNEZ VM (2006) Effects of temperature on the transmission of West Nile virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 43:309–317
- REISEN WK, LOTHROP HD, WHEELER SS, KENNSINGTON M, GUTIÉRREZ A, FANG Y, GARCÍA S Y LOTHROP B (2008) Persistent West Nile virus transmission and the apparent displacement St. Louis encephalitis virus in southeastern California, 2003–2006. *Journal of Medical Entomology* 45:494–508
- REISEN WK Y REEVES WC (1990) Bionomics and ecology of *Culex tarsalis* and other potential mosquito vector species. Pp. 254–329 en: REEVES WC (ed) *Epidemiology and control of mosquito-borne arboviruses in California, 1943–1987*. California Vector Control Association, Sacramento
- SAGGESE MD (2007a) West Nile virus in Neotropical raptors: should we be concerned? Pp. 149–173 en: BILDSTEIN KL, BARBER DR Y ZIMMERMAN A (eds) *Neotropical raptors. Proceedings of the Second Neotropical Raptor Conference, Iguazú, Argentina, 2006*. Hawk Mountain Sanctuary, Orwigsburg
- SAGGESE MD (2007b) Medicina de la conservación, enfermedades y aves rapaces. *Hornero* 22:117–130
- SAITO EK, SILEO L, GREEN DE, METEYER CU, MACLAUGHLIN GS, CONVERSE KA Y DOCHERTY DE (2007) Raptor mortality due to West Nile Virus in the United States, 2002. *Journal of Wildlife Diseases* 43:206–213
- SAMINA I, KHINICH Y, SIMANOV M Y MALKINSON M (2005) An inactivated West Nile Virus vaccine for domestic geese -efficacy study and a summary of 4 years of field application. *Vaccine* 23:4955–4958

- SAMUEL MA Y DIAMOND MS (2006) Pathogenesis of West Nile Virus infection: a balance between virulence, innate and adaptive immunity, and viral evasion. *Journal of Virology* 80:9349–9360
- SARDELIS MR, TURELL MJ, DOHM DJ Y O'GUINN ML (2001) Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* 6:1018–1022
- SARDELIS M, TURELL M, O'GUINN M, ANDRE R Y ROBERTS D (2002) Vector competence of three North American strains of *Aedes albopictus* for West Nile virus. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18:284–289
- SCHERRET JH, POIDINGER M, MACKENZIE JS, BROOM AK, DEUBEL V, LIPKIN WI, BRIESE T, GOULD EA Y HALL RA (2001) The relationships between West Nile and Kunjin viruses. *Emerging Infectious Diseases* 7:697–705
- SCHMIDT RE, REAVILL DR Y PHALEN DN (2003) *Pathology of pet and aviary birds*. Blackwell Publishing, Ames
- SHAMAN J, DAY JF Y STIEGLITZ M (2002) Drought-induced amplification of Saint Louis encephalitis virus, Florida. *Emerging Infectious Diseases* 8:575–580
- SHAMAN J, DAY JF Y STIEGLITZ M (2003) St. Louis encephalitis virus in wild birds during the 1990 south Florida epidemic: the importance of drought, wetting conditions, and the emergence of *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae) to arboviral amplification and transmission. *Journal of Medical Entomology* 40:547–554
- SHAMAN J, DAY JF Y STIEGLITZ M (2005) Drought-induced amplification and epidemic transmission of West Nile virus in southern Florida. *Journal of Medical Entomology* 42:134–141
- SI Y, SKIDMORE AK, WANG T, DE BOER WF, DEBBA P, TOXOPEUS AG, LIY L Y PRINS HH (2009) Spatio-temporal dynamics of global H5N1 outbreaks match bird migration patterns. *Geospatial Health* 4:65–78
- SMALLWOOD SK Y NAKAMOTO B (2009) Impacts of the West Nile virus epizootic on the Yellow-Billed Magpie, American Crow, and other birds in the Sacramento Valley, California. *Condor* 111:247–254
- SMITHBURN KC, HUGHES TP, BURKE AW Y PAUL JH (1940) A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 20:471–492
- SNAPINN KW, HOLMES EC, YOUNG DS, BERNARD KA, KRAMER LD Y EBEL GD (2007) Declining growth rate of West Nile virus in North America. *Journal of Virology* 81:2531–2534
- STEELE KE, LINN MJ, SCHIEPP RJ, KOMAR N, GIESBERT TW, MANDUCA RM, CALLE PP, RAPHAEL BL, CLIPPINGER TL, LARSEN T, SMITH J, LANCIOTTI RS, PANELLA NA Y MCNAMARA TS (2000) Pathology of fatal West Nile Virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York city, New York. *Veterinary Pathology* 37:208–224
- STOUT WE, CASSINI AG, MEECE JK, PAPP JM, ROSENFELD RN Y REED KD (2005) Serologic evidence of West Nile Virus infection in three wild raptor population. *Avian Diseases* 49:371–375
- SWADDLE JP Y CALOS SE (2008) Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: observation of the dilution effect. *PLoS One* 3:e2488
- TIZARD IR (2004) *Veterinary immunology. An introduction*. Saunders, Philadelphia
- TSAI TE, POPOVICI F, CERNESCU C, CAMPBELL GL Y NEDELICU NI (1998) West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet* 352:767–771
- TURELL MJ, DOHM DJ, SARDELIS MR, OGUINN ML, ANDREADIS TG Y BLOW JA (2005) An update on the potential of north American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *Journal of Medical Entomology* 42:57–62
- TURELL MJ, O'GUINN ML, DOHM DJ, WEBB JP JR Y SARDELIS MR (2002a) Vector competence of *Culex tarsalis* from Orange County, California, for West Nile virus. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2:193–196
- TURELL MJ, O'GUINN M Y OLIVER J (2000) Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 62:413–414
- TURELL MJ, SARDELIS MR, DOHM DJ, O'GUINN ML Y WASIELOSKI LP JR (2001) Potential North American vectors of West Nile virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76:408–416
- TURELL MJ, SARDELIS MR, O'GUINN ML Y DOHM DJ (2002b) Potential vectors of West Nile virus in North America. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 267:241–252
- VAIDYANATHAN R Y SCOTT TW (2007) Geographic variation in vector competence for West Nile virus in the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) complex in California. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 7:193–198
- WARD MR, STALLKNECHT DE, WILLIS J, CONROY MJ Y DAVSON WR (2006) Wild bird mortality and West Nile virus surveillance: biases associated with detection, reporting and carcass persistence. *Journal of Wildlife Diseases* 42:92–106
- WELTE T, REAGAN K, FANG H, MACHAIN-WILLIAMS C, ZHENG X, MEDELL N, CHANG GJ, BLAIR CD Y WANG T (2009) Toll-like receptor 7-induced immune response to cutaneous West Nile Virus. *Journal of General Virology* 90:2660–2668
- WHEELER SS, BARKER CM, FANG Y, ARMIJOS MV, CARROLL BD, HUSTED S, JOHNSON WO Y REISEN WK (2009) Differential impact of West Nile Virus on California birds. *Condor* 111:1–20
- WOBESER GA (2006) *Essentials of disease in wild animals*. Blackwell Publishing, Ames
- WOBESER GA (2007) *Disease in wild animals. Investigation and management*. Segunda edición. Springer, Berlín

- WÜNSCHAMN A, SHIVERS J, BENDER J, CAROLL L, FULLER S, SAGGESE M, VAN WETTERE A Y REDIG P (2004) Pathologic findings in Red-Tailed Hawks (*Buteo jamaicensis*) and Cooper's Hawks (*Accipiter cooperi*) infected with West Nile Virus. *Avian Diseases* 28:570-580
- WÜNSCHAMN A, SHIVERS J, BENDER J, CAROLL L, FULLER S, SAGGESE M, VAN WETTERE A Y REDIG P (2005) Pathologic and immunohistochemical findings in Goshawks (*Accipiter gentilis*) and Great Horned Owls (*Bubo virginianus*) naturally infected with West Nile Virus. *Avian Diseases* 49: 252-259
- YAREMYCH SA, WARNER RE, MANKIN PC, BRAWN JD, RAIM A Y NOVAK R (2004) West Nile virus and high death rate in American crows. *Emerging Infectious Diseases* 10:709-711
- ZELLER HG Y SCHUFFENECKER I (2004) West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 23:147-156