

VIRUS DEL OESTE DEL NILO: PERSPECTIVAS EN EL MUNDO VERTEBRADO

José Peña¹, Luis Berrocal¹, Marco González¹, César Ponce², Katuska Ariza², Salim Máttar^{1*}

¹ Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Montería, Colombia.

² Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia Seccional Santa Marta, Colombia. * Correspondencia: smattar@escarsa.net.co

RESUMEN

El virus del Oeste del Nilo (VON) pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*, es transmitido por artrópodos en un ciclo que involucra a mosquitos y aves. Por muchas décadas había sido reconocido en África, Asia y el sur de Europa. El virus apareció por primera vez en Estados Unidos en año de 1999 y se ha documentado su circulación en México, Islas Caimán, Jamaica, República Dominicana, Martinica, Guadalupe, Cuba, Puerto Rico, El Salvador y Colombia. Sólo recientemente fue asociado con un creciente número de brotes de encefalitis en humanos y equinos, además de infecciones en vertebrados de una gran variedad de especies. Muchos animales, incluyendo más de 150 especies de aves y al menos 30 vertebrados de otras especies son susceptibles a la infección por VON. El resultado de las infecciones depende de la especie, la edad del animal, su estado inmune y la patogenicidad de la cepa del virus. La infección ocurre en aves, como passeriformes, pollos jóvenes y gansos domésticos, lo que resulta en altos títulos de viremia que permite la transmisión a los artrópodos. Está menos caracterizado el rol de los vertebrados en la transmisión indirecta, como por órganos contaminados, tejidos o excreciones. La creciente importancia de la infección por VON ha conducido al desarrollo de vacunas veterinarias con virus muertos, atenuados, quiméricos y vacunas de ADN recombinante. En esta revisión se discute en forma general la importancia de infección por VON en vertebrados, su rol en medicina veterinaria y su posible impacto en salud animal por su reciente introducción a Colombia.

Palabras clave: Virus del oeste del Nilo, Colombia, vertebrados, ecología, salud animal.

WEST NILE VIRUS: PERSPECTIVE IN THE VERTEBRATE WORLD

ABSTRACT

West Nile virus, an arthropod-borne virus belonging to the family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*, is transmitted in a cycle involving mosquitoes and birds. For many decades it had been recognized in Africa, Asia and the south of Europe. In 1999 it appeared by first time in North America and its circulation has been documented in México, Jamaica, Dominican Republic, Guadalupe, Cuba, Puerto Rico, El Salvador and Colombia. Only recently it has been associated with an increasing number of outbreaks of encephalitis in humans and equines, as well as infections in vertebrates of a wide variety of species. A wide variety of vertebrates, including more than 150 bird species and at least 30 other vertebrate species, are susceptible to WNV infection. The outcome of infection depends on the species, the age of the animal, its immune status and the pathogenicity of the WNV isolate. WNV infection of various birds, especially Passeriforms, but also of

young chickens and domestic geese, results in high-titred viremia that allows arthropod-borne transmission. The role of vertebrates in direct, non-arthropod-borne transmission, such as via virus-contaminated organs, tissues or excretions is less well characterized. The increased importance of WNV infections has led to the development of killed, live attenuated, DNA-recombinant and chimeric veterinary vaccines. In this article, are reviewed the role of vertebrates in the WNV infection and its importance in medicine veterinary. Future perspectives are discussed as well as its impact in animal health because of its recent introduction to Colombia.

Keywords: West Nile Virus, Colombia, vertebrates, ecology, animal health.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por VON han sido reconocidas por muchas décadas. El virus fue aislado por primera vez en la provincia West Nile de Uganda en 1937 de la sangre de una mujer con fiebre (Zeller 2004) y muy pronto llegó a ser reconocido como uno de los flavivirus más ampliamente dispersos en humanos, aves y mosquitos en África, el medio oriente y el sur de Europa. Desde principios de los años 90, la frecuencia y severidad de las infecciones por VON en humanos aumentó, como también el número de reportes en una variedad de vertebrados incluyendo mascotas, animales de granja, y en animales salvajes. Además, fue reconocido en áreas no afectadas previamente. El virus VON se ha establecido en Norte América donde ha encontrado vectores competentes, hospederos amplificadores susceptibles y mecanismos eficientes para sobrevivir durante las temporadas frías. Se ha encontrado evidencia de su circulación en el caribe (O'Leary y col. 2001, Dupuis y col. 2003, Komar y col. 2003, Dupuis y col. 2005, Quirin y col. 2004), Centro América (Estrada-Franco y col. 2003, Cruz y col. 2005) y recientemente en Colombia (Máttar y col. 2005).

VIRUS DEL OESTE DEL NILO

El VON pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. Hace parte del serocomplejo de la encefalitis japonesa junto con los virus Cacipacora, Koutango, encefalitis japonesa, encefalitis de San Luis, encefalitis Murray Valley, Usuto y Yaounde (Zeller 2004). Es una partícula esférica de 50 nm de diámetro, la nucleocapside contiene un genoma de ARN de cadena sencilla con sentido positivo con una longitud de aproximadamente 11.000 bp empaquetado dentro de un centro de proteína C.

El extremo 5' del genoma codifica las tres proteínas estructurales del virus C-prM (M)-E, mientras la porción 3' codifica siete proteínas no estructurales NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5 (Briton 2002, Deubel y col. 2001).

IMPORTANCIA EN VERTEBRADOS

Las infecciones por VON han sido descritas en gran variedad de vertebrados. Los más importantes son las aves, especialmente las silvestres, por lo que son el principal hospedero del virus. La alta viremia en aves y su duración permite la transmisión a mosquitos, y las migraciones que éstas realizan en primavera se han sugerido como las responsables de la introducción en áreas no afectadas. Por otra parte, otro amplio rango de vertebrados son susceptibles a la infección por VON, pero la enfermedad adquirida naturalmente es rara, siendo los equinos una excepción. Estos regularmente desarrollan encefalitis como resultado de la infección natural.

AVES

El VON ha sido detectado en 150 especies de aves silvestres y domésticas, siendo las del orden Passeriformes las más susceptibles (Komar y col. 2003). Estas desarrollan los más altos niveles de viremia y diseminan las más altas cantidades de virus en fluidos oral y cloacal. En las passeriformes las infecciones pueden resultar en severos signos neurológicos y altas tasas de mortalidad. Las especies pertenecientes al orden Chadriiformes (Komar y col. 2003) así como los gansos domésticos (orden Anseriformes) (Austin y col. 2004, Banet-Noach y col. 1990, Olaleye y col. 2003), son altamente susceptibles a la infección y

enfermedad. En otras aves, la viremia y diseminación son generalmente más restringidas y la enfermedad o muerte es rara. Las especies de psittacine y gallinaceous son las menos susceptibles (Blitvich y col. 2003). Además de los factores genéticos, otros factores pueden influir en la susceptibilidad a la infección y enfermedad por VON. Recientemente se sugirió que se han desarrollado variantes genéticas con mayor patogenicidad que las aisladas anteriormente (Malkinson y col. 2002). Realmente, sólo hasta 1998 se reportó enfermedad severa y muerte en aves, cuando ocurrió un brote en Israel durante el cual 160 de 400 gansos domésticos desarrollaron encefalitis fatal (Office International des Epizooties 1999). Un año más tarde, un brote de VON en Norte América resultó en miles de muertes en una variedad de aves exóticas y nativas. Análisis genómicos revelaron que las cepas aisladas en Norte América e Israel eran esencialmente idénticas (Lanciotti y col. 1999), pero diferían de cepas aisladas anteriormente.

La enfermedad en aves se caracteriza por signos neurológicos, incluyendo ataxia, parálisis, torticolis e incoordinación. También pueden observarse signos neurológicos como depresión, letargia, plumaje arrugado, pérdida de peso y miocarditis (Guy y col. 2003, Komar y col. 2003, Swayne y col. 2001). Las tasas de mortalidad son altas. Durante infecciones naturales en gansos 25-40% de las aves murieron (Austin y col. 2004, Office International des Epizooties 1999) y en infecciones experimentales se han observado tasas de mortalidad tan altas que oscilan entre 50-75% (Banet-Noach y col. 1990, Swayne y col. 2001). En las especies susceptibles de passerines y chadriiformes descritas por Komar y col. (2003), la mayoría de las aves que mostraron signos clínicos murieron dentro de las 24 horas.

EQUINOS

Se ha encontrado evidencia serológica de infecciones por VON en equinos en Egipto 1956 (Taylor y col. 1956) e Israel 1960 (Akov y col. 1966). Tres años más tarde se aisló el virus de una yegua con desordenes del sistema nervioso (Murgue y col. 2002). Desde entonces el VON ha sido reportado en Francia (Murgue y col. 2001), Portugal (Murgue y col. 2001), Marruecos (Tber

1996), Italia (Cantile y col. 2000), e Israel (Steinman y col. 2002). Desde su introducción a Norte América en 1999, el VON ha causado más de 15000 casos de enfermedad neurológica en caballos, y llegó a ser oficialmente endémico en 2003. Vigilancia serológica demostraron su presencia en caballos en México (Blitvich y col. 2003) y Austria (Weissenbock y col. 2003). La infección por VON en caballos frecuentemente pasa sin presentación de enfermedad clínica. Solamente 10-12% de las infecciones resultan en enfermedad (Bunning y col. 2002, Petersen y col. 2001). La enfermedad se caracteriza principalmente por debilidad muscular, ataxia y recumbencia como resultado de daño nervioso en la espina dorsal. Además, se puede observar comportamiento anormal, déficit nerviocraneal y rechinar de dientes. Los síntomas más tardíos son el resultado de daño cerebral. También pueden presentarse fiebre y anorexia. Los signos clínicos difieren entre brotes. Durante el brote en Italia y Francia la ataxia y recumbencia fueron los principales signos (Cantile y col. 2000, Murgue y col. 2001), en Israel y Estados Unidos los signos clínicos fueron indicativos de daño cerebral (Snook y col. 2001, Steinman y col. 2002).

OTROS VERTEBRADOS

Se han detectado anticuerpos contra VON en al menos 30 especies diferentes de vertebrados, incluyendo animales de granja, mascotas y de vida salvaje. La seroprevalencia parece ser más altas en regiones donde el virus ha circulado por décadas. El número de animales seropositivos también depende de las especies de vertebrados. La diferencia en la seroprevalencia puede estar relacionada a la susceptibilidad de las especies vertebradas, a condiciones medioambientales (exposición a mosquitos) y/o a otros factores desconocidos comprometidos con la patogénesis de la infección por VON (Komar 2003). En la mayoría de especies vertebradas diferentes a equinos y aves, el VON no es la principal causa de enfermedad neurológica. Sin embargo en Estados Unidos la infección resultó en 2 severos brotes de enfermedad neurológica en cocodrilos durante el otoño de 2001 y 2002 estos padecieron de "mirada fija" en el agua, encallaban en partes secas del corral y mostraron espasmos en el cuello y pérdida de locomoción. De los más de 10000

reptiles alojados en la granja, 250 murieron en 2001 y más de 1000 murieron en 2002. Los animales jóvenes fueron más afectados que los adultos (Miller y col. 2003). Esto pudo ser debido al hecho que la competencia inmune en lagartos jóvenes es dependiente de la temperatura (Frye. 1991). Carne de caballo contaminada con VON y de la que se alimentaron los reptiles fue presumiblemente el origen del brote. Casos individuales de enfermedad inducida por VON fueron observadas en ovejas (Tyler y col. 2003, Tesh y col. 2002), alpacas (Dunkel y col. 2004, Yaeger y col. 2004), perros (Buckweitz y col. 2003, Lichtensteiger y col. 2003) y lobos (Lichtensteiger y col. 2003). La enfermedad estuvo siempre caracterizada por progresión de signos neurológicos incluyendo debilidad muscular, ataxia, convulsión, parálisis, torticolis, hiperestesia, recumbencia y alteración mental. En reptiles una competencia inmune relacionada con la edad pareció afectar el resultado de la infección por VON (Yaeger y col. 2004).

TRANSMISIÓN

El virus del oeste del Nilo al igual que muchos otros arbovirus tiene dos ciclos distintos de transmisión: un ciclo enzoótico primario o ciclo de amplificación que envuelve un grupo de vectores y hospederos aviáres, y un ciclo secundario que envuelve artrópodos diferentes y transmisión a otros hospederos como humanos y caballos (figura 1). Las especies del género *Culex* parecen ser el principal vector implicado en el ciclo de amplificación aviar. En África y el medio oriente el principal vector es *Cx. univittatus* (aunque *Cx. poicilipes*, *Cx. neavei*, *Cx. decens*, *Aedes albocephalus*, o *Mimomyia spp.* juegan un rol importante en ciertas áreas). En Europa, los vectores principales son *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, y *Coquillettidia richiardii*. En Asia los principales vectores son *Culex quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, y *Cx. vishnui* (Turell y col. 2001, Sardelis y col. 2000, Hubalek y col. 1999).



Figura 1. Ciclo de transmisión primario del VON que compromete aves reservorio competentes como hospederos amplificadores que transmiten el virus a los mosquitos durante un breve período de elevada viremia. Los mosquitos vectores competentes pueden infectar a las aves susceptibles para mantener el ciclo. El ciclo secundario envuelve artrópodos diferentes y transmisión a otros hospederos como humanos y caballos, estos son considerados hospederos incidentales finales. Pueden existir modos alternativos de transmisión en varios puntos a través del ciclo.

Las aves pueden jugar un papel importante en el ciclo de transmisión si desarrollan niveles de viremia suficientes para infectar a los vectores. Generalmente, viremias de $10^{6.0}$ PFU/ml se consideran infecciosas para la mayoría de mosquitos *Culex* (Sardelis y col. 2000, Goddard y col. 2002, Turell y col. 2000) y *Culiseta inornata* (Goddard y col. 2002). Especies de *Aedes* y *Ochlerotatus* también son infectados cuando se alimentan durante altas viremias, aunque las tasas de infección y transmisión pueden ser más bajas. Komar y col. (2003) evaluaron 25 especies de aves y demostraron que las viremias frecuentemente exceden $10^{6.0}$ PFU /ml. Los passeriformes fueron las aves más susceptibles, exhibiendo viremias de $10^{12.1}$ PFU/ml. Las altas viremias, sumadas al amplio rango de mosquitos susceptibles y el alto riesgo de exposición a picaduras, permiten establecer que las aves, especialmente las passeriformes juegan un papel principal en la transmisión. La probabilidad que el virus pueda ser transmitido de un ave infectada a un mosquito incrementa con la persistencia del virus por mayor tiempo en la sangre del ave. Esta persistencia fue demostrada en patos y palomas experimentalmente infectados, en los cuales el VON pudo ser aislado de la sangre hasta por 101 y 100 días, respectivamente (Komar 2003).

La presencia de virus infeccioso en tejidos u órganos de un hospederos infectado puede contribuir a la transmisión oral directa para un hospedador no infectado (Komar y col. 2003, McLean y col. 2002). La transmisión oral directa fue la causa de un brote severo de enfermedad neurológica en reptiles de granja en Estados Unidos (Yaeger y col. 2004). De igual forma, la infección y subsiguiente muerte de un halcón de cola roja en New York probablemente fue el resultado del consumo de una presa contaminado con VON (Garmendia y col. 2000). Es posible que mosquitos infectados sean un origen de infección cuando son consumidos por insectívoros (Komar y col. 2003). La cantidad de virus en tejidos de vertebrados o de mosquitos, necesarios para inducir transmisión oral es tema de futuras investigaciones.

Komar et al. (Komar y col. 2003) demostró la diseminación por fluidos cloacal y oral. La transmisión por contacto directo también se ha demostrado en gansos (Banet-Noach y col. 1990,

Swayne y col. 2001) y pollos (Langevin y col. 2001) inoculados experimentalmente. Por la presencia del virus en fluidos cloacal y oral junto con el cercano contacto cloacal y oral que ocurre durante la temporada de apareamiento y crianza, es posible que la transmisión por contacto directo ocurra entre aves en la naturaleza. En mosquitos *Culex* y *Aedes* se ha demostrado transmisión vertical (Langevin y col. 2001, Baqar y col. 1993, Dohm y col. 2002) que puede servir como un mecanismo potencial para que el virus inverne en regiones con clima templado. El rol de la transmisión vertical en vertebrados no ha sido claro.

VACUNAS PARA ANIMALES

Hasta hace 5 años, el control de mosquitos era sólo la estrategia práctica para prevenir y manejar la infección por VON. Sin embargo, la incrementada frecuencia y severidad de la infección observada durante la última década, inició el desarrollo de varias vacunas. Estas incluyen vacunas inactivadas, recombinantes y atenuadas para uso tanto en medicina humana como veterinaria. El principal propósito de vacunación en medicina veterinaria es proteger a las especies vertebradas altamente susceptibles tales como equinos, gansos y otras aves de importancia económica. Otro propósito de la vacunación es la reducción de viremia, principalmente en aves, con el fin de reducir la probabilidad de ocurrencia del ciclo de transmisión hospedador-mosquito.

Se han desarrollado varias vacunas para equinos que protegen significativamente contra viremia y enfermedad (Davis y col. 2001, Lustig y col. 2000, Malkinson y col. 2001, Ng y col. 2003). Una vacuna quimérica VON atenuada, ideada molecularmente (ChimeriVox-WN Vet, Acambis Inc, Cambridge, MA, USA), que contiene los genes de premembrana y envoltura de la cepa salvaje WNV-NY99 (Lanciotti y col. 1999) en un sostén de la vacuna de fiebre amarilla virus 17D fue descrita por Arroyo y col. (2001). En hámster, una sencilla administración intramuscular de este ChimeriVax™-WN protegió 17 de 18 (94%) de los animales contra viremia después de la exposición (Tesh y col. 2002). Esto fue significativamente más bajo que lo observado previamente en animales no vacunados (10^5 TCID₅₀/ml) (Xiao y col. 2001). Las propiedades protectivas de ChimeriVax™-WN no

han sido examinadas todavía en otras especies vertebradas.

En términos de su distribución global, el VON ha sido claramente el más exitoso de los flavivirus que producen encefalitis (Gould y col. 2004). Hasta 1999, los virus asociados a mosquitos *Culex spp.*, eran encontrados solamente en el nuevo mundo (virus encefalitis de San Luis, virus cacipacora) o sólo en el viejo mundo (virus del oeste del Nilo, virus de la encefalitis japonesa). Aún se desconoce la forma como fue introducido el VON a Norte América, pero lo más probable es que este implicado el transporte humano. Es extremadamente improbable que el virus haya sido introducido por un ave o un mosquito infectado, volando desde el viejo mundo, pues si éste hubiera sido el método, entonces esto debió haber ocurrido muchas veces en el pasado y presumiblemente, otros virus africanos asociados con mosquitos *Culex spp.* como virus Usutu y virus Yaounde también hubieran sido introducidos (Goul y col. 2003). La entrada accidental del VON en el nuevo mundo posiblemente representa otro ejemplo del impacto de los sistemas de transporte moderno sobre la emergencia de enfermedades virales (Gould y col. 2001).

La importancia en salud pública del VON si es introducido en áreas de centro y sur América (Colombia) donde otros flavivirus como Dengue,

fiebre amarilla, virus encefalitis de San Luis y virus Ilheus son endémicos dependerá del resultado de la interacción de factores sumamente complejos. No se sabe cómo se adaptará el VON a nuevos ecosistemas en el nuevo mundo. Tampoco se sabe si el VON y los flavivirus sudamericanos pueden compartir los mismos hospederos y ecosistemas (similar a SLEV en Norte América). Igualmente se desconoce el papel que jugará la interferencia de anticuerpos heterólogos a otros virus del serocomplejo de la JEV que poseen las aves y otros hospederos vertebrados en cómo se expandirá el VON y causará enfermedad humana y animal (Tesh y col. 2002).

Colombia, por su ubicación geográfica, diversidad de reservorios, vectores, y características climatológicas de predominio tropical reúne todas las condiciones que favorecen la entrada y desarrollo del VON. La llegada del virus al país es una gran oportunidad para estudiar y hacer un seguimiento a la introducción de un nuevo arbovirus, su adaptación a un nuevo nicho ecológico, rango de vectores, y hospederos mamíferos. El virus podría llegar a ser enzoótico y endémico y causar limitada enfermedad humana, o podría llegar a ser epidémico y causar brotes anuales que afecten humanos y animales. El descubrimiento de seropositividad en equinos en dos departamentos de la región caribe colombiana es evidencia indirecta de la circulación del virus en un ciclo enzoótico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akov Y, Goldwasser R. Prevalence of antibodies to arboviruses in various animals in Israel. Bull World Health Organ 1966; 34: 901-909.
2. Arroyo J, Miller CA, Catalan J, Monath TP. Yellow fever vector live-virus vaccines: West Nile virus vaccine development. Trends Mol Med 2001; 7:350-354.
3. Austin RJ, Whiting TL, Anderson RA, Drebot MA. An outbreak of West Nile virus-associated disease in domestic geese (*Anser anser domesticus*) upon initial introduction to a geographic region, with evidence of bird to bird transmission. Can Vet J 2004; 45:117-123.
4. Baqar S, Hayes CG, Murphy JR, Watts DM. Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. Am J Trop Med Hyg 1993; 48:757-762.
5. Banet-Noach C, Simanov L, Malkinson M. Direct (non-vector) transmission of West Nile virus in geese. Avian Pathol 2003; 32:489-494.
6. Blitvich BJ, Fernández-Salas I, Contreras-Cordero JF, Marlenee NL, Gonzalez-Rojas JI, Komar N, Gubler DJ, Calisher CH, Beaty BJ. Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Coahuila State, Mexico. Emerg Infect Dis 2003; 9:853-856.

7. Briton M. The Molecular Biology of West Nile Virus: A new invader of the western hemisphere. *Ann Rev Microbiol* 2002; 56:371-402.
8. Buckweitz S, Kleiboeker S, Marioni K, Ramos-Vera J, Rottinghaus A, Schwabenton B, Johnson G. Serological, reverse transcriptase-polymerase chain reaction, and immunohistochemical detection of West Nile virus in a clinically affected dog. *J Vet Diagn Invest* 2003; 15:324-329.
9. Bunning ML, Bowen RA, Cropp CB, Sullivan KG, Davis BS, Komar N, Godsey MS, Baker D, Hettler DL, Holmes DA, Biggerstaff BJ, Mitchell CJ. Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:380-386.
10. Cantile C, Di Guardo G, Eleni C, Arispici M. Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet J* 2000; 32:31-35.
11. Cruz L, Cardenas VM, Abarca M, Rodriguez T, Reyna RF, Serpas MV, Fontaine RE, Beasley DW, Da Rosa AP, Weaver SC, Tesh RB, Powers AM, Suarez-Rangel G. Short Report: Serological evidence of west Nile virus activity in El Salvador. *Am J Trop Med and Hyg* 2005; 72:612-615.
12. Davis BS, Chang GJ, Cropp B, Roehrig JT, Martin DA, Mitchell CJ, Bowen R, Bunning ML. West Nile virus recombinant DNA vaccine protects mouse and horse from virus challenge and expresses in vitro a non-infectious recombinant antigen that can be used in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Virol* 2001; 75:4040-4047.
13. Deubel V, Fiette L, Gounon P, Drouet MT, Khun H, Huerre M, Banet C, Malkinson M, Despres P. Variations in biological features of West Nile viruses. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 951:195-206.
14. Dohm DJ, Sardelis MR, Turell MJ. Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2002; 39:640-644.
15. Dunkel B, Del Piero F, Wotman KL, Johns IC, Beech J, Wilkins PA. Encephalomyelitis from West Nile flavivirus in 3 alpacas. *J Vet Intern Med* 2004; 18:365-367.
16. Dupuis AP, Marra PP, Kramer LD. Serologic evidence for West Nile virus transmission in Jamaica, West Indies. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:860-863.
17. Dupuis II AP, Marra PP, Reitsma R, Jones MJ, Louie KL, Kramer LD. Serologic evidence for West Nile virus transmission, Puerto Rico and Cuba. *Amer J Trop Med and Hyg* 2005; 2:474-6.
18. Estrada-Franco JG, Navarro-López R, Beasley DW, Coffey L, Carrara AS, Travassos de Rosa A, Clements T, Wang E, Ludwig GV, Cortes AC, Ramirez PP, Tesh RB, Barrett AD, Weaver SC. West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:1604-1607.
19. Frye FL. Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry, 1991. vol 1, 2nd ed. Krieger Publishing Co, Malabar, Florida.
20. Garmendia AE, Van Kruiningen HJ, French RA, Anderson JF, Andreadis TG, Kumar A, West AB. Recovery and identification of West Nile virus from a hawk in winter. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3110-3111.
21. Goddard LB, Roth AE, Reisen WK, Scott TW. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:1385-1391.
22. Gould EA, Moss S, Turner L. Evolution and dispersal of encephalitic flaviviruses. *Arch Virol Suppl* 2004; 18:65-84.
23. Gould EA, De Lamballerie X, Zanotto PM, Holmes E. Origins, evolution, and vector/host co-adaptations within the Genus *Flavivirus*. *Adv Virus Res* 2003; 59:277-314.
24. Gould EA, De Lamballerie X, Zanotto PM, Holmes E. Evolution, epidemiology and dispersal of flaviviruses revealed by molecular phylogenies. *Adv Virus Res* 2001; 57:71-103.
25. Guy JS, Malkinson M. Arbovirus infections. En: SaifYM (ed) *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa

- State University Press, Ames, Iowa, 2003; p.388389.
26. Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:643-650.
 27. Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, Davis B, Bowen R, Bunning M. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:311-322.
 28. Komar N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Adv Virus Res* 2003; 61:185-234.
 29. Komar O, Robbins MB, Klenk K, Blitvich BJ, Marlenee NL, Burkhalter KL, Gubler DJ, Gonzalez G, Pena CJ, Peterson AT, Komar N. West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:1299-302.
 30. 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, Panigrahy B, Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T, Gubler DJ. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 1999; 286:2333-2337.
 31. Langevin SA, Bunning M, Davis B, Komar N. Experimental infection of chickens as candidate sentinels for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:726-729.
 32. Lichtensteiger CA, Heinz-Taheny K, Osborne TS, Novak RJ, Lewis BA, Firth ML. West Nile virus encephalitis and myocarditis in wolf and dog. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:1303-1306.
 33. Lustig S, Olshevsky U, Ben-Nathan D, Lachmi BE, Malkinson M, Kobilier D, Halevy M. A live attenuated West Nile virus strain as a potential veterinary vaccine. *Viral Immunol* 2000; 13:401-410.
 34. Malkinson M, Banet C, Khinich Y, Samina I, Pokamunski S, Weisman Y. Use of live and inactivated vaccines in the control of West Nile fever in domestic geese. *Ann NY Acad Sci* 2001; 951:255-261.
 35. Malkinson M, Banet C, Weisman Y, Pokamuski S, King R, Drouet MT, Deubel V. Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:392-397.
 36. Mattar S, Edwards E, Laguado J, Gonzalez M, Alvarez J, Komar N. West Nile Virus Antibodies in Colombian Horses. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1497-1498.
 37. McLean RG, Ubico SR, Bourne D, Komar N. West Nile virus in livestock and wild life. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002; 267:271-308.
 38. Miller DL, Muel MJ, Baldwin C, Burtle G, Ingram D, Hines ME 2nd, Frazier KS, West Nile virus in farmed alligators. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:794799.
 39. Murgue B, Zeller H, Deubel V. The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Curr Trop Microbiol Immunol* 2002; 267:195-221.
 40. Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand JP, Zeller H. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:692-696.
 41. Ng T, Hathaway D, Jennings N, Champ D, Chiang YW, Chu HJ. Equine vaccine for West Nile virus. *Dev Biol (Basel)* 2003; 114:221-227.
 42. O'Leary DR, Nasci RS, Campbell GL, Marfin AA. West Nile virus activity-United States, 2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51:497-501.
 43. Olaleye OD, Omilabu SA, Ilomechina EN, Fagbami AH. A survey for haemagglutination-inhibiting antibody to West Nile virus in human and animal sera in Nigeria. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1990; 13:35-39.

44. Office International des Epizooties. West Nile fever in Israel in geese. *Disease Information* 1999; 12:166.
45. Petersen LR, Roehrig JT. West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:611-614.
46. Quirin R, Salas M, Zientara S, Martinez D. West Nile virus, Guadeloupe. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:706-708.
47. Sardelis MR, Turell MJ, Dohm DJ, O'Guinn ML. Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2000; 17:1018-1022.
48. Snook CS, Hyman SS, Del Piero F, Palmer JE, Ostlund EN, Barr BS, Desrochers AM, Reilly LK. West Nile virus encephalomyelitis in eight horses. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218:1576-1579.
49. Steinman A, Banet C, Sutton GA, Yadin H, Hadar S, Brill A. Clinical signs of West Nile virus encephalomyelitis in horses during the outbreak in Israel in 2000. *Vet Rec* 2002; 151: 47-49.
50. Swayne DE, Beck JR, Smith CS, Shieh WJ, Zaki SR. Fatal encephalitis and myocarditis in young domestic geese (*Anser anser domesticus*) caused by West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:751-753.
51. Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Rizk F. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Amer J Trop Med Hyg* 1956; 5:579.
52. Tber A. A West Nile fever in horses in Morocco. *Bull Office Int Epizoot* 1996; 11: 867-869.
53. Tesh RB, Arroyo J, Travassos Da Rosa AP, Guzmán H, Xiao SY, Monath TP. Efficacy of killed virus vaccine, live attenuated chimeric virus vaccine, and passive immunization for prevention of West Nile virus encephalitis in hamster model. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:1392-1397.
54. Tesh RB, Travassos Da Rosa A, Guzmán H, Araújo TP, Xiao SY. Immunization with Heterologous Flaviviruses Protective Against Fatal West Nile Encephalitis. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:245-251.
55. Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm DJ, Jones JW. Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol* 2001; 38:130-134.
56. Turell MJ, O'Guinn M, Oliver J. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62:413-414.
57. Tyler JW, Turnquist SE, David AT, Kleiboeker SB, Middleton JR. West Nile virus encephalomyelitis in a sheep. *J Vet Intern Med* 2003; 17:242-244.
58. Weissenböck H, Hubalek Z, Halouzka J, Pichlmair A, Maderner A, Fragner K, Kolodziejek J, Loupal G, Kolbl S, Nowotny N. Screening for West Nile virus infections of susceptible animal species in Austria. *Epidemiol Infect* 2003; 131:1023-1027.
59. Xiao SY, Guzman H, Zhang H, Travassos Da Rosa AP, Tesh RB. West Nile virus infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*): a model for West Nile encephalitis. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:714-721.
60. Yaeger M, Yoon KJ, Schwartz K, Berkland L. West Nile virus meningoencephalitis in a Suri alpaca and Suffolk ewe. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16:64-66.
61. Zeller H. West Nile Virus: An Overview of Its Spread in Europe and the Mediterranean basin in Contrast to Its Spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:147-156.

Recibido: 4 de Agosto de 2005; aceptado: 29 de Noviembre de 2005