

Virus del Oeste del Nilo: Ecología y Epidemiología de un Patógeno Emergente en Colombia

LUIS BERROCAL, JOSÉ PEÑA,
MARCO GONZÁLEZ y SALIM MATTAR

Recibido 30 Noviembre 2005/Enviado para Modificación 1 Abril 2006/Aceptado 7 Junio 2006

RESUMEN

El virus del oeste del Nilo (VON) es mantenido en la naturaleza en un ciclo enzoótico ave-mosquito-ave. Los principales vectores son los mosquitos del género *Culex*. Las aves son los huéspedes amplificadores primarios. Humanos y caballos son huéspedes incidentales finales. En humanos las infecciones por VON se presentan como enfermedad febril autolimitada. En los casos de enfermedad neurológica se puede presentar encefalitis, meningitis o meningoencefalitis, con mayor incidencia y mortalidad por encefalitis en personas de mayor edad y pacientes inmunocomprometidos. Se han reportado brotes en África, Medio Oriente, Europa y Asia. El virus apareció por primera vez en Estados Unidos en 1999 y se ha documentado su circulación en México, Islas Caimán, Jamaica, República Dominicana, Martinica, Guadalupe, Cuba, Puerto Rico, El Salvador y recientemente Colombia. La importancia en salud pública de VON si es introducido en áreas de Centro y Sur América dependerá del resultado de la interacción de múltiples factores. Colombia reúne las condiciones que favorecen su entrada y desarrollo. Se pueden postular dos hipótesis: 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. Esto dependerá de la susceptibilidad de las especies aviares colombianas al virus por las diferencias en su biología, y a las variaciones geográficas intraespecíficas en la competencia de las diferentes especies de mosquito y los efectos de las condiciones medioambientales sobre su habilidad para transmitir el virus, y estos factores son determinantes en el ciclo de amplificación primario.

Palabras Clave: Virus del oeste del Nilo, ecología, epidemiología, Colombia (fuente: DeCS, BIREME).

ABSTRACT**West Nile virus; ecology and epidemiology of an emerging pathogen in Colombia**

West Nile virus (WNV) has an enzootic mosquito-bird-mosquito cycle in nature, *Culex* sp mosquitoes being the main vectors. Birds are the main amplifying hosts. Humans and horses are incidental dead-end hosts. It produces a flu-like or a self-limited febrile disease in most humans. It can cause encephalitis, meningitis or meningoencephalitis in cases of neurological disease, having greater incidence and mortality from encephalitis in older people and immune-compromised patients. Outbreaks have been reported in Africa, the Middle-east, Europe and Asia. WNV first appeared in North-America in 1999 and its circulation has been documented in Mexico, the Caiman islands, Jamaica, the Dominican Republic, Martinique, Guadalupe, Cuba, Puerto Rico, El Salvador and more recently in Colombia. The public health concern regarding WNV if it becomes introduced into Middle- and South-America will depend upon the interaction of several factors. The prevailing conditions in Colombia are apt for its spread and development. There are two main hypotheses; the virus could become enzootic and endemic and cause limited human disease, or it could become epidemic and cause annual outbreaks affecting large numbers of humans and animals. It will depend upon Colombian birds' susceptibility to the virus because of biological differences and intra-specific geographical variations in mosquito species' vector competence and the environmental effects on its ability to transmit the virus; such factors are determinant in the primary amplifying cycle.

Key Words: West Nile virus, ecology, epidemiology, Colombia (source: MeSH, NLM).

La fiebre por el virus del oeste del Nilo (VON) es una enfermedad viral identificada originalmente en África en el distrito West Nile de Uganda, de allí deriva su nombre, el agente viral fue aislado en 1937 de la sangre de una paciente febril (1). Estudios ecológicos realizados en Egipto entre los años 1952-1954 establecieron el ciclo del virus, el cual involucra mosquitos como vectores, aves como huéspedes amplificadores, y humanos y caballos como huéspedes incidentales finales (2).

La fiebre por VON fue considerada inicialmente como una arbovirosis menor que inducía en humanos esencialmente una enfermedad no sintomática o parecida a una gripe. Las primeras epidemias de encefalitis se reportaron en Israel en los años cincuenta y luego en Francia entre 1962-1963, afectando tanto a humanos como caballos (1). Durante las siguientes décadas

se continúo detectando actividad del virus en África, Asia y el Medio Oriente (3).

En la década de los 90 el virus fue responsable de brotes epidémicos importantes de encefalitis en África, Europa y América (4-9) y Europa (4-7). El VON se ha expandido siguiendo el esquema de diseminación que probablemente sucedió en el viejo mundo en el pasado. Se ha encontrado evidencia de su circulación en el caribe (10-14), centro América (15,16) y recientemente en Colombia (17).

Estructura y clasificación taxonómica

El VON pertenece al genero *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 (1). 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. 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 (18-20).

Transmisión

La exposición más común al VON es a través de la picadura de un mosquito infectado. Se han descrito diferentes modos de transmisión en humanos como la infección por hemoderivados (21), transplante de órganos (22), leche materna (23), transmisión intrauterina (24) y exposición ocupacional (25). Varios experimentos en mamíferos y aves han demostrado la infección después de la exposición oral al virus (26-28).

Características clínicas

La mayoría de las infecciones por VON son sintomáticas (5). El periodo de incubación es de aproximadamente 2-14 días y de 2-6 días para los casos febris. Clínicamente, la encefalitis por VON es generalmente típica a las producidas por arbovirus. En algunos pacientes se presenta con un pró-dromo de fiebre (más de 39° C), dolor de cabeza, mialgias, síntomas gastrointestinales y otros no específicos que duran de uno a varios días. En otros, se ha descrito un comienzo más abrupto de fiebre acompañado por signos y síntomas de encefalitis, especialmente cambios en el estado mental y vómitos. Estas anormalidades pueden estar acompañadas de una debilidad muscular difusa, parálisis flácida y falla respiratoria (29,31,32). La fase aguda de la enfermedad demora normalmente menos de una semana, pero

puede ser común un periodo de fatiga prolongada, sarpullido maculopapular o roseolar generalizado y linfoadenopatía generalizada (5,29-31).

Dentro de las manifestaciones neurológicas que se presentan con poca frecuencia en las infecciones virales por VON se encuentran: mielitis, neuritis óptica y poliradiculitis (33). Las escasas manifestaciones extra-neurológicas son la miocarditis, pancreatitis y hepatitis fulminante (34).

Diagnóstico

La serología es la herramienta más importante para el diagnóstico de la infección por VON (35). El desarrollo de anticuerpos neutralizantes específicos para VON entre la fase aguda y la fase convaleciente de la enfermedad se demuestra por un aumento de más de 4 veces del título de anticuerpos por la técnica de reducción de neutralización en placa PRNT. La especificidad se asume con la demostración de títulos de anticuerpos neutralizantes para VON que son 4 veces más altos que los títulos para todos los flavivirus con los cuales debe ser comparado el VON. Las muestras ideales para los *tests* de neutralización son las recogidas en la fase aguda y la fase convaleciente, del primer día de enfermedad y tres semanas después, respectivamente (34).

La presencia de anticuerpos IgM en el suero o LCR también es un indicador confiable y eficiente de infección. Los exámenes ELISA de captura de anticuerpos IgM son considerados como los más confiables (36). Más del 90 % de los pacientes con meningoencefalitis tienen anticuerpos IgM en LCR dentro de los 8 días del comienzo de los síntomas (34). Debido a la cercana relación antigenica de VON con otros flavivirus los resultados deben ser interpretados cuidadosamente (34). Las personas recientemente vacunadas o infectadas con otros flavivirus pueden tener anticuerpos IgM que producen reacciones cruzadas con VON. Así, la presencia de anticuerpos IgM puede reflejar una infección previa con un flavivirus no relacionado o vacunación contra un flavivirus como la fiebre amarilla (34). En Colombia, recientemente se demostró que los *tests* disponibles de diagnóstico del VON no son adecuados en zonas del caribe endémicas de flavivirus (37). Dos ensayos altamente sensibles desarrollados recientemente, distinguen en forma confiable entre infecciones por VON, virus dengue y virus encefalitis de San Luis (34). El diagnóstico exacto de la infección viral por VON puede realizarse a través del aislamiento del virus en cultivo celular e identificándolo por IFA con anticuerpos monoclonales (35).

Ecología

Aves. Son los huéspedes vertebrados primarios para VON (1). Esencialmente, casi todos los huéspedes vertebrados que son expuestos, ya sea por

inoculación o por la picada de mosquitos infecciosos desarrollaron viremia y/o producen anticuerpos. Sin embargo, las aves sobresalen de los otros huéspedes vertebrados por ser amplificadores de viremias de suficiente duración y magnitud para infectar a los mosquitos vectores (38).

Las epidemias en Nueva York en 1999 y en Israel entre 1997-2000 presentaron un gran numero de cuervos y gansos muertos respectivamente (8,38), en contraste las epidemias por VON en el viejo mundo tuvieron pocos reportes de muertes en aves infectadas cuando se presentaron los casos humanos (1). Una posible explicación para las altas tasas de muerte es la introducción de una nueva cepa aviar más virulenta; estudios realizados en Norte América respaldan esta hipótesis. Los aislados virales del brote en Nueva York mostraron un 99.8% de similitud genómica con una cepa aislada del cerebro de un ganso muerto en Israel en 1998 (39,40).

La mortalidad aviar fue extensiva en Norte América, las infecciones fatales alcanzaron más de 28.000 muertes entre 1999 y 2002 y comprendieron 198 especies (38). Komar y colaboradores (28) evaluaron las dinámicas de transmisión en 25 especies de aves que representaron 10 órdenes diferentes y 17 familias, exponiéndolas al virus por la picada de mosquitos. Se observó mortalidad en ocho especies que desarrollaron altos títulos de viremia, particularmente en las passerinas. La mayoría de aves en este estudio sobrevivieron la fase aguda de la infección y desarrollaron anticuerpos neutralizantes, y varios órdenes fueron incompetentes, incluyendo piciformes, psittaciformes y galliformes (28). La susceptibilidad a la infección varía considerablemente entre las especies de aves (38).

Aunque se ha especulado con frecuencia sobre el papel de las aves migratorias como huéspedes que dispersan el virus (40), los datos epizootiológicos de estudios de campo no han sido contundentes (38).

Recientemente se han reportado estudios que muestran evidencia indirecta de la circulación del virus en centro América y el caribe (11, 12, 13, 41, 42) la evidencia del virus en los neotrópicos podría ser un importante desarrollo en la expansión de éste.

Aves de Colombia y VON. En Colombia existen aproximadamente 1 800 especies de aves pertenecientes a cerca de 80 familias (43). De las migratorias provenientes de Norte América, se ha encontrado el virus en 34 especies, que representa el 24% de las que llegan al país y menos del 2 % de la avifauna nacional. El grupo más notorio en el momento en Estados Unidos (cuervos y urracas) probablemente no sea el que se vea más afectado en Colombia por las diferencias en las especies colombianas y su biología (44).

Mosquitos. El VON es mantenido en la naturaleza en un ciclo enzoótico ave-mosquito-ave. Actualmente 43 especies de mosquitos han sido encontradas positivas para el virus (9). Las especies de huéspedes varían en su habilidad para infectar mosquitos, esto es debido a que los huéspedes difieren en su nivel de viremia, o la cantidad de virus que se replica y circula por su sangre.

El VON 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 huéspedes aviares, y un ciclo secundario que envuelve artrópodos diferentes y transmisión a otros huéspedes como humanos y caballos. En el ciclo primario, los mosquitos ornitofílicos como *Cx. pipiens* se alimentan de aves virémicas (huéspedes amplificadores), llegan a ser infectados, y transmiten el virus a otros huéspedes amplificadores. Si las condiciones apropiadas se dan (temperatura, especies de mosquito, densidad de la población de mosquitos, numero de huéspedes susceptibles, etc.) ocurrirá una epizootia en la población aviar (45-47).

Las especies del género *Culex* parecen ser el principal vector implicado en el ciclo de amplificación aviar, y un número de mosquitos susceptibles son alimentadores oportunistas que se alimentan tanto de mamíferos como de aves. En África y el medio oriente el principal vector es *Cx. univittatus* (aunque *Cx. poicilipes*, *Cx. neavei*, *Cx. decens*, *Aedes albcephalus*, o *Mimomyia spp.* juegan un rol importante en ciertas áreas). En Europa y Norte America, los vectores principales son *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, y *Coquillettidia richiardii*, en Asia los principales vectores son *Culex quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, y *Cx. vishnui* (46,48).

Estudios preliminares en las áreas de Colombia donde se hallaron los equinos seropositivos, no encontraron *pooles* de mosquitos positivos en 99 especies diferentes capturados de Octubre de 2004 a Junio de 2005 y analizados por la técnica VecTest WNV/SLV (Medical Análisis Systems, CA, USA) (49).

Epidemiología

Las primeras epidemias por VON ocurrieron en Israel en 1951, 1957 y 1962 (1). Serovigilancias en humanos demostró que el VON era endémico a lo largo del Nilo Egipcio, con anticuerpos en más del 60% de la población (3). En Europa el VON fue detectado por primera vez en Albania en 1958. En España en 1961, 1970 y 1980, en Portugal en 1967 y Rumania en los años 70 (3). En el verano de 1962 se reportó el primer brote en Francia, posteriormente se detectaron anticuerpos neutralizantes en serovigilancias realizadas

entre 1963, 1964 y en 1983 (3). En Rusia y Ucrania el virus fue aislado de mosquitos, y al oeste de Ucrania se reportó un caso de encefalitis humana en 1985 (3).

Brotes recientes. En la década de los 90 el virus fue responsable de brotes importantes en diferentes países. En 1994 en Argelia con 8 casos fatales, en 1996 en Marruecos con 42 fatalidades, en 1997 en Túnez con 8 muertes (3). En 1998 muestras de suero de 18 caballos que sufrián de encefalomielitis en Israel tuvieron anticuerpos neutralizantes, en esta ocasión el virus fue aislado del cerebro de una cigüeña (39,40). En 1999 miles de gansos fueron sacrificados cuando se identificó el virus en un lote comercial y se encontró una alta similitud genética entre la cepa aislada del cerebro de un ganso y el aislado de Nueva York en 1999. En 1999 se reportaron 2 casos fatales y la cepa aislada del cerebro de un paciente fue idéntica a la cepa aviar de 1998. De agosto a octubre de 2000 ocurrieron 417 casos confirmados con 33 fatalidades, el virus fue aislado de muestras de suero de 4 pacientes. El análisis filogenético reveló la co-circulación de 2 variantes genéticas, una relacionada con los aislados de Israel en 1998 y Nueva York en 1999 y la otra con un aislamiento en Rusia en 1999 (3). En Rumania, Italia, República Checa, Francia, Rusia e Israel se han confirmado casos de infección en humanos y equinos (3).

En septiembre de 1999 se detectó el virus por primera vez en el continente americano en Nueva York. El brote se presentó con 62 casos de encefalitis humana incluyendo 7 muertes y 20 casos de encefalitis equina con 9 fatalidades. Este brote fue muy notable debido a la alta mortalidad en las aves infectadas (principalmente cuervos y azulejos). El virus ha persistido desde 1999 hasta la fecha y se diseminó en 46 estados y ha sido responsable de numerosos casos de encefalitis en humanos (19 655 casos) y en equinos (8,9,50,51). Se ha documentado la presencia del VON en caballos y aves en México (15). En octubre de 2001 se detectó un caso en un paciente de las islas Caimán (10), y se capturaron aves seropositivas en Jamaica (11), República Dominicana (12), Cuba y Puerto Rico (13). En el Salvador se produjo un brote de encefalitis equina (16). En las islas caribeñas francesas Martinica y Guadalupe se reportaron caballos seropositivos (14). En noviembre de 2004 durante una vigilancia serológica realizada en dos departamentos de la costa caribe colombiana (Córdoba y Sucre) se encontraron 12 sueros equinos positivos de 130 analizados (17).

Epidemiología molecular. Estudios filogenéticos sobre una región de 255 bp del gen de la glicoproteína E (posición del genoma 1402-1656) han mostrado la existencia de dos linajes que divergen en un 30% en la secuencia de

nucleótidos. El linaje I incluye cepas de África, Europa, el medio oriente, Norte América, India y Australia. El linaje II comprende cepas solamente del África sub-sahariana y Madagascar. La cepa viral responsable de los brotes recientes en humanos, caballos y aves pertenece al linaje I y muestra una fuerte semejanza en la secuencia de nucleótidos (98-100 %).

Perspectivas

La importancia en salud pública del VON si es introducido en 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 complejos. No se sabe cómo se adaptará el VON a los ecosistemas en el nuevo mundo. Tampoco se sabe si el VON y los flavivirus sudamericanos pueden compartir los mismos huéspedes y ecosistemas (similar a SLEV en Norte América), podría esperarse que la competición entre VON y otros flavivirus por los huéspedes aviales y mosquitos vectores resulte en la exclusión competitiva de uno de estos virus (52). Igualmente se desconoce el papel que jugaran los anticuerpos heterólogos a otros virus del serocomplejo de la JEV que poseen las aves y otros huéspedes vertebrados (52). Colombia, por su ubicación geográfica, diversidad de reservorios y vectores, y características climatológicas de predominio tropical reúne todas las condiciones que favorecen la entrada y desarrollo del VON. Se pueden postular dos hipótesis; 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.

Una amplificación enzoótica altamente eficiente por un aumento en la población de huéspedes aviales infectados y de mosquitos vectores produciría una epizootia aviar y equina que aumentaría el riesgo de infección en humanos. Esto dependerá de la susceptibilidad de las especies aviales colombianas al VON y a las variaciones geográficas específicas en la competencia de las diferentes especies de mosquito y los efectos de las condiciones medioambientales sobre su habilidad para transmitir el virus •

Agradecimientos. L. Berrocal y J. Peña fueron apoyados por COLCIENCIAS a través del programa de jóvenes investigadores 2005.

REFERENCIAS

1. Zeller H, Schuffenecker I. West Nile Virus: An Overview of Its Spread in Europe and the Mediterranean basin in Contrast to Its Spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23:147-156.
2. Hayes CG. West Nile fever. In; *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology.* T. P. Monath, ed. Boca Raton, FL.: CRC Press, vol. V ; 1989. p. 59-88.

3. Murgue B, Zeller H, Deubel V. The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002; 267:195–221.
4. Nur YA, Groen J, Heuvelmans H, Tuynman W, Copra C, Osterhaus AD, et al. An outbreak of West Nile fever among migrants in Kisangani, Democratic Republic of Congo. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 61:885-888.
5. Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis in southeastern Romania. *The Lancet.* 1998; 352:767-771.
6. Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina AY, Tyutyunnik EN, Frolochkina TI, Lanziotti RS, et al. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7:128-132.
7. Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand JP, Zeller H, et al. West Nile Outbreak in Horses in Southern France, 2000: The Return after 35 Years. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7:692-6.
8. Garmendia AE, Van Kruiningen HJ, French RA. The West Nile virus: its recent emergence in North America. *Microbes Infect.* 2001; 3:223–9.
9. Granwehr BP, Lillbridge KM, Higgs S, Mason P, Aronson J, Campbell G, et al. West Nile virus: where are we now? *Lancet Infect. Dis.* 2004; 4: 547-556.
10. 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.
11. Dupuis AP, Marra PP, Kramer LD. Serologic evidence for West Nile virus transmission in Jamaica, West Indies. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9:860–3.
12. Komar O, Robbins MB, Klenk K, Blitvich BJ, Marlenee NL, Burkhalter KL, et al. West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9:1299–302.
13. Dupuis AP, Marra PP, Reitsma R, Jones MJ, Louie KL, Kramer LD, et al. Serologic evidence for West Nile virus transmission, Puerto Rico and Cuba. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73(2):474-6.
14. Quirin R, Salas M, Zientara S, Martinez D, Zeller H, Labie J, et al. West Nile virus. Guadeloupe. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10:706-8.
15. Estrada-Franco J, Navarro-Lopez R, Beasley D, Coffey L, Carrara A, Travasos da Rosa A, et al. West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1604–7.
16. Cruz L, Cardenas V, Abarca M, Rodriguez T, Serpas M, Fontaine R, et al. Short Report: Serological evidence of west Nile virus activity in El Salvador. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* 2005; 72: 612–615.
17. Mattar S, Edwards E, Laguado J, Gonzalez M, Alvarez J, Komar N. West Nile Virus antibodies in Colombian Horses. [letter]. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 1497-8.
18. Briton M. The Molecular Biology of West Nile Virus: A new invader of the western hemisphere. *Ann Rev Microbiol.* 2002; 56:371-402.
19. Deubel V, Fiette L, Gounon P, Drouet MT, Khun H, Huerre M, et al. Variations in biological features of West Nile viruses. *Ann N Y Acad Sci.* 2001; 951:195-206.

20. Beasley DW, Whiteman MC, Zhang S, Huang C, Schneider B, Smith B, et al. Envelope protein glycosylation status influences mouse neuroinvasion phenotype of genetic lineage 1 West Nile virus strains. *J Virol.* 2005; 79:8339-47.
21. Harrington T, Kuehnert MJ, Kamel H, Lanciotti R, Hand S, Currier M, et al. West Nile virus infection transmitted by blood transfusion. *Transfusion.* 2003; 43: 1018-1022.
22. Iwamoto M, Jernigan DB, Guasch A, Trpcia MJ, Blacmore CG, Hellinger WC, et al. Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 2196-2203.
23. Centers for Disease Control and Prevention. Update: West Nile virus screening of blood donations and transfusion associated transmission. United States, 2003. *MMWR.* 2004; 53: (13), 281-284.
24. Gould LH, Fikrig E. West Nile virus: a growing concern? *J. Clin. Invest.* 2004; 113: 1102-1107.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired West Nile virus infections – United States, 2002. *MMWR.* 2002; 51 (50), 1133-1135.
26. Glaser A. West Nile virus and North America: an unfolding story. *Rev Sci Tech.* 2004; 23:557-68.
27. Steele KE, Linn MJ, Schoepp RJ, Komar N, Geisbert TW, Manduca RM, et al. Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Vet. Pathol.* 2000; 37: 208-224.
28. Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, et al. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 311-322.
29. Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med* 2001; 344: 1807-14.
30. Platonov AE. West Nile encephalitis in Russia 1999-2001: were we ready? Are we ready? *Ann N Y Acad Sci* 2001; 951: 102-16.
31. Chowers MY, Lang R, Nassar F, Ben-David D, Giladi M, Rubinstein E, et al. Clinical characteristics of the West Nile fever outbreak, Israel, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 675-78.
32. Ceausu E, Erscoiu S, Calistru P, Ispas D, Dorobat O, Homos M, et al. Clinical manifestations in the West Nile virus outbreak. *Rom J Virol* 1997; 48: 3-11.
33. Sampson BA, Armbrustmacher V. West Nile encephalitis: the neuropathology of four fatalities. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 951: 172-78.
34. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2:519-529.
35. Beaty BJ, Calisher CH, Shope RE, Lennette EH, Lennette DA, and Lennette ET. Diagnostic procedures for viral, rickettsial, and chlamydial infections, 7th ed. Washington, DC: American Public Health Association; 1995. p. 189-212.

36. Petersen LR, Marfin AA. West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann. Intern. Med.* 2002; 137:173-179.
37. Mattar S, Parra M, Torres J. Limitaciones en el serodiagnóstico del VON en zonas endémicas del caribe colombiano. *Colombia med.* 2005. 2005; 36: 254-262.
38. Komar N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Adv Virus Res.* 2003; 61:185-234.
39. Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele, et al. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the north-eastern United States. *Science* 1999; 286:2333-7.
40. Malkinson M, Banet C. The role of birds in the ecology of West Nile virus in Europe and Africa. . *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002; 267:309-322
41. Fernández-Salas I, Contreras JC, Blitvich BJ, Gonzalez J, Cavazos A, Marlenee N, et al. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Birds, Tamaulipas State, México. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2003; 3: 209-213.
42. Farfán J, Blitvich BJ, Loroño-Pino M, Marlenee N, Rosado-Paredes E, García J, et al. Longitudinal Studies of West Nile Virus Infection in Avians, Yucatán State, México. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2004; 4: 3-14.
43. Stotz DF, Fitzpatrick JW, Parker TA, Moskovits DK. Neotropical Birds. Ecology and Conservation. Chicago: Univ. of Chicago Press; 1996. p. 478.
44. Rosselli L. Aves de Colombia y el Virus del Nilo Occidental. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. [Internet]. Disponible en: www.ornitologiacolombiana.org/boletinespdf/west_nile.pdf. Consultado Abril 10 de 2004.
45. Dohm DJ, O'Guinn ML, Turell MJ. Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol.* 2002; 39: 221-225.
46. 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.
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.* 2001; 7: 1018-1022.
48. Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis.* 1999; 5: 643-650.
49. Jaramillo M, Peña J, Berrocal L, Mattar S, Gonzalez M, Komar N, et al. Vigilancia centinela para el virus del oeste del Nilo en Culicidos y aves domésticas en el departamento de Córdoba. *MVZ-Córdoba* 2005; 10:(2), 633-638.
50. Hayes EB. Epidemiology and transmission dynamics of west nile virus disease. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1167-73.
51. Centers for disease control and prevention. West Nile virus; statistics, surveillance and control. [Internet] Disponible en: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbld/westnile/surv&control.htm> Consultado Noviembre 8 de 2005.
52. Tesh RB, Travassos da Rosa A, Guzman H, Araujo TP, Xiao SY. Immunization with Heterologous Flaviviruses Protective Against Fatal West Nile Encephalitis. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8: 245-251.