

Evaluación del Virus del Oeste del Nilo en aves silvestres de una isla del Caribe colombiano

Evaluation of West Nile Virus in wild birds on an island in the Colombian Caribbean

Diego Soler-Tovar¹ & Víctor Vera²

¹Grupo de Epidemiología y Salud Pública, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

✉ dsolert@gmail.com, diegosoler@unisalle.edu.co

²Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

✉ vjveraa@unal.edu.co

Resumen

El virus del Oeste del Nilo es el agente causal de una enfermedad zoonótica transmitida por mosquitos. Con fines de prevención, es importante evaluar las posibilidades de su detección temprana. Las aves son el principal vehículo de difusión de la enfermedad por ser su hospedero de amplificación, mientras que el hombre, los equinos y otros vertebrados son hospederos terminales. A Colombia llegan aves migratorias provenientes de Centro y Norteamérica, en donde se ha reportado la enfermedad previamente; además, existe evidencia de circulación del virus en vertebrados de Suramérica. Evaluamos la presencia de este virus en hisopados de aves muestreadas en la isla de San Andrés empleando la prueba VecTest West Nile Virus Antigen Assay y la inoculación en células Vero. Procesamos muestras de 300 individuos de ocho familias del orden Passeriformes y una familia del orden Columbiformes, de las cuales el 14% de los individuos correspondían a especies migratorias y el 86% a residentes. Los resultados tanto para la detección de antígeno como para el aislamiento viral fueron negativos. Si bien no se encontró evidencia de la presencia del virus en las aves silvestres evaluadas, existe el riesgo potencial de aparición de este virus en la isla debido a la existencia de poblaciones de mosquitos vectores activos durante todo el año. Por lo tanto, recomendamos establecer un sistema de vigilancia como medida de rutina a desarrollarse en la época de migración otoñal de aves en la isla.

Palabras clave: células Vero, Isla de San Andrés, VecTest, vigilancia, VON.

Abstract

West Nile Virus is the causative agent of a zoonotic disease transmitted by mosquitoes. For prevention purposes, it is important to evaluate possibilities of early detection. Birds are the main vectors spreading the disease because they are the hosts for amplification, whereas humans, horses and other vertebrates are terminal hosts. Migratory birds arrive in Colombia from Central and North America, where the disease has been reported previously. We evaluated the presence of this virus in swabs of birds sampled on San Andres Island, using the test VecTest West Nile Virus Antigen Assay and inoculation in Vero cells. We sampled 300 individuals from eight families of the order Passeriformes and one family in the order Columbiformes, of which 14% of the individuals were migratory and 86% were residents. The results of tests for the detection of the antigen and the viral isolate were negative. Although no evidence was found of the presence of the virus in the wild birds tested, there is a potential risk of emergence of this virus on the island owing to the existence of active vector mosquito populations throughout the year. We therefore recommend establishing a monitoring system as a routine measure during the fall migration season on the island.

Key words: San Andres Island, surveillance, VecTest, Vero cells, WNV.

Introducción

El virus del Oeste del Nilo (VON; Flaviviridae, *Flavivirus*) es el agente causal de una enfermedad zoonótica transmitida por mosquitos, principalmente

del género *Culex* (Lampman 2006). El virus fue aislado por primera vez en Uganda en 1937 y está ampliamente distribuido en África, Eurasia, Oceanía y, desde 1999, en América (Kilpatrick 2011). Los equinos (Morales *et al.* 2006), humanos

(Berrocal *et al.* 2006) y otras especies de mamíferos son hospederos incidentales y terminales del virus, el cual también puede afectar reptiles y anfibios (Klenk & Komar 2003, Marra *et al.* 2004). El virus causa fiebre e incluso signología neurológica en los vertebrados (Ward *et al.* 2006). Los signos en las aves infectadas varían según la especie, familia, presencia de anticuerpos y resistencia natural, y se pueden presentar de forma aguda, subaguda o crónica (Kilpatrick 2011). Las aves infectadas se caracterizan por debilidad, plumas erizadas, posturas inusuales, inhabilidad para sostener la cabeza verticalmente, incapacidad para desplazarse y muerte en 24 horas en algunos grupos (Male 2003, Marra *et al.* 2004).

La presencia del virus en Centro y Norteamérica, junto con un número relativamente grande de aves migratorias susceptibles a este agente (Komar *et al.* 2002, Nemeth *et al.* 2007), hacen a esta enfermedad merecedora de especial atención por su posible impacto sobre la fauna silvestre (Kilpatrick 2011), los animales domésticos (Morales *et al.* 2006) y los humanos (Rappole *et al.* 2000, Berrocal *et al.* 2006, Rappole *et al.* 2006). En Colombia, existe evidencia de la circulación del virus (o al menos seroconversión positiva) en equinos de los departamentos de Antioquia, Córdoba, Meta y Sucre (Mattar *et al.* 2005, Góez-Rivillas *et al.* 2010). Por otro lado, aproximadamente 179 especies de aves que anidan en Norteamérica llegan a Colombia durante sus migraciones al Neotrópico; para estas aves, Colombia es una puerta de entrada a Suramérica (Hilty & Brown 2001, Reed *et al.* 2003, McLean 2006). En más de 34 de estas especies se ha registrado infección con el virus (Rappole & Hubálek 2003, Reed *et al.* 2003, Rappole *et al.* 2006). Las aves migratorias que resisten la infección y son capaces de mantener niveles altos del virus en la sangre (como algunas Passeriformes), junto con la presencia de especies de mosquitos susceptibles, permiten el mantenimiento del ciclo enzoótico del virus (Komar & Clark

2006, Owen *et al.* 2006, Kilpatrick 2011), y hacen posible la dispersión del virus hacia el sur del continente donde existen las condiciones necesarias para su multiplicación durante todo el año (Rappole *et al.* 2000, Berrocal *et al.* 2006).

Debido a la importancia de esta enfermedad, evaluamos la presencia del VON en aves silvestres de la isla de San Andrés, Caribe colombiano, entre septiembre de 2005 y febrero de 2006. Esta isla es un lugar de paso obligado para un número significativo de aves migratorias (Lincoln *et al.* 1998, McNish 2003, Raffaele *et al.* 2003) y cuenta con mosquitos vectores (Olano *et al.* 2004), por lo cual es un área en riesgo de llegada del VON, aunque a la fecha no existen informes sobre la presencia de la enfermedad.

Materiales & Métodos

Realizamos este estudio en seis estaciones del Programa de Monitoreo y Conservación de Aves Migratorias de la Fundación ProAves en la isla de San Andrés, departamento de Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Colombia (Fig. 1). Todas las aves fueron marcadas con anillos tarsales para evitar repetición de muestras en caso de recapturas (Morales 2005). A cada individuo capturado le tomamos dos muestras de la orofaringe mediante hisopos estériles de algodón sobre la mucosa (Lindsay *et al.* 2003). Al finalizar el muestreo todas las aves fueron liberadas.

La primera muestra de cada ave fue introducida en un tubo de plástico de 1.5 ml con 0.75 ml de solución buffer fosfato (PBS, pH 7.2), penicilina G al 0.5% y estreptomycin sulfato al 0.5%, y almacenada a -70°C hasta su procesamiento en el laboratorio. Empleamos el ensayo de placas en células Vero (Siirin *et al.* 2004, Panella *et al.* 2005) con crecimiento celular de ocho días en cajas de seis pozos, con dos réplicas por muestra, para el diagnóstico a través de la formación de placas por



Figura 1. Mapa de las estaciones de muestreo (círculos blancos) en la isla de San Andrés. Imagen tomada el 18 de agosto de 2011 de Google Earth.

el efecto citopático del virus sobre la monocapa del cultivo celular. Utilizamos un doble revestimiento de agarosa al 1% para cada pozo. La mitad del volumen del revestimiento al 1% de agarosa se llevó a ebullición y se mantuvo en baño maría a 56°C hasta su utilización. La otra mitad del volumen del revestimiento incluyó medio celular nutritivo M-199, penicilina G al 0.5%, estreptomycin sulfato al 0.5% y bicarbonato de sodio. Sólo el segundo revestimiento incluyó adicionalmente rojo neutral al 0.004%. Esta solución se mantuvo en baño maría a 37°C hasta su utilización. Posteriormente, mezclamos volúmenes iguales de las dos soluciones previamente preparadas y las mantuvimos a 44°C hasta su utilización (N. Komar, com. pers.). Removimos el medio celular de los pozos de cada caja dejando 200 μ l para cubrir las células y prevenir el secado. Adicionamos 100 μ l de cada muestra a los pozos en duplicado; como control

negativo inoculamos en duplicado 100 μ l de agua ultrapurificada. Movimos las cajas permitiendo que las muestras cubrieran la capa celular uniformemente y las incubamos con CO₂ al 5% por 1 hora a 37°C. Adicionamos 3 ml del primer revestimiento por pozo, dejamos que se solidificara e incubamos por 48 horas. Luego adicionamos 3 ml del segundo revestimiento (con rojo neutral; N. Komar, com. pers.). Hicimos lecturas macroscópicas y microscópicas de las cajas cada 24 horas por ocho días. Si observábamos áreas redondeadas de células muertas apareciendo como placas sin color considerábamos la muestra positiva (a partir del tercer día de cultivo); si estas áreas no aparecían, la monocapa celular era normal y de color uniforme considerábamos la muestra negativa (N. Komar, com. pers.).

La segunda muestra fue procesada con la prueba

comercial VecTest® West Nile Virus (WNV) Antigen Assay, siguiendo las instrucciones del fabricante. Esta es una prueba de tamizaje rápida y sencilla para detectar la presencia del virus. La prueba consiste en que el antígeno (virus) se une a los anticuerpos específicos en una tira reactiva produciendo un cambio de color rojizo; la prueba no permite una evaluación cuantitativa del antígeno vírico en la muestra (Lampman *et al.* 2006).

En nuestros análisis no incluimos controles positivos debido a que el VON se consideraba una enfermedad exótica al momento de nuestro trabajo, por lo cual el ingreso del virus al país se encontraba restringido. Sin embargo, las pruebas utilizadas han demostrado ser altamente confiables para detectar el VON en otros estudios (véase Discusión).

Resultados

Tomamos muestras de 300 individuos de 21 especies de aves; 40 individuos de 13 especies eran migratorios. La mayoría de estas especies eran de la familia Parulidae, aunque la especie migratoria con mayor tamaño de muestra era de la familia Cardinalidae (Azulillo Norteño, *Passerina cyanea*).

Entre las ocho especies residentes, las más representadas en la muestra fueron el Mielero Común (*Coereba flaveola*, 182 individuos) y el Semillero Pechinegro (*Tiaris bicolor*, 50 individuos). Debido a su gran abundancia en la isla, estas especies residentes podrían constituirse en hospederos importantes para el virus (Tabla 1; véase también Soler *et al.* 2007).

Tanto para la prueba del VecTest® realizada en el campo como para el ensayo de placas en células Vero todas las muestras (300 individuos) fueron negativas para el VON. Por lo tanto, no existe evidencia de la presencia del VON en las aves silvestres del área muestreada.

Discusión

Todas las aves procesadas arrojaron resultados negativos en ambas pruebas para la detección del VON (prueba VecTest® y ensayo de placas en células Vero). Por lo tanto, no existe evidencia de la presencia del VON en las aves silvestres del área muestreada en la isla de San Andrés. Sin embargo, es importante tener en cuenta que las pruebas empleadas tienen un margen de error, por lo cual, aunque improbable, la presencia del VON en la muestra no es totalmente descartable. La sensibilidad (probabilidad de detección de los positivos como verdaderamente positivos) de la prueba de

Tabla 1. Aves silvestres incluidas en el estudio sobre la evaluación de la presencia del VON en la isla de San Andrés. Los nombres de las familias y especies siguen la clasificación de Remsen *et al.* (2011).

Familia	Especie	Individuos
Columbidae	<i>Patagioenas leucocephala</i> ¹	1
Tyrannidae	<i>Elaenia martinica</i>	12
Vireonidae	<i>Vireo altiloquus</i> ¹	5
	<i>Vireo caribaeus</i>	8
Mimidae	<i>Dumetella carolinensis</i> ^{1*}	6
	<i>Mimus gilvus</i> *	3
Incertae sedis	<i>Coereba flaveola</i>	182
	<i>Tiaris bicolor</i>	50
Cardinalidae	<i>Pheucticus ludovicianus</i> ^{1*}	1
	<i>Passerina cyanea</i> *	12
Parulidae	<i>Dendroica caerulescens</i> ^{1*}	1
	<i>Dendroica magnolia</i> *	2
	<i>Dendroica petechia</i> ^{1*}	1
	<i>Geothlypis trichas</i> ^{1*}	2
	<i>Helmitheros vermivorum</i> *	1
	<i>Mniotilta varia</i> *	2
	<i>Seiurus aurocapilla</i> ^{1*}	3
	<i>Seiurus noveboracensis</i> ^{1*}	2
	<i>Setophaga ruticilla</i> *	3
	<i>Vermivora peregrina</i> *	2
Icteridae	<i>Icterus leucopteryx</i>	1
Total		300

¹Especies afectadas por el VON en Norteamérica (Rappole *et al.* 2000, McLean 2006).

*Especies migratorias.

VecTest® es del 60-87% y de la de placas en células vero de 74-100%, mientras que la especificidad (probabilidad de detección de los negativos como verdaderamente negativos) de ambas pruebas es de 97-100% (Nasci *et al.* 2002, Siirin *et al.* 2004, Stone *et al.* 2004). De cualquier manera, en estudios futuros se debe considerar la inclusión de controles positivos en los análisis.

Este estudio representa la primera aproximación de vigilancia del VON en muestras orofaríngeas de aves aparentemente sanas en el Caribe colombiano. A pesar de que no detectamos la presencia del VON en San Andrés, existe el riesgo potencial de su aparición, difusión y permanencia en la isla por varias razones. Entre éstas se incluyen la presencia de poblaciones de vectores apropiados (*Culex* spp.) que pueden ser activos durante todo el año debido a las condiciones ambientales y a la existencia permanente de sitios óptimos para su reproducción, como aguas estancadas naturales (manglares, charcas, entre otras) y artificiales (tanques, otros depósitos de agua) (Olano *et al.* 2004). Además, el alto número de especies de Passeriformes migratorios y la abundancia de una o más especies de aves potencialmente hospedadoras (Tabla 1; Lincoln *et al.* 1998, Raffaele *et al.* 2003, Komar *et al.* 2005), así como las condiciones tropicales propias del lugar (fotoperiodo, temperatura, humedad, pluviosidad, entre otras) son ideales para la amplificación y persistencia del VON (Male 2003, Komar *et al.* 2005).

El hallazgo de aves muertas y el subsecuente diagnóstico del VON parece proveer el mejor y más temprano sistema de alerta en países como Canadá y Estados Unidos (Male 2003, Ward *et al.* 2006). Por lo tanto, recomendamos establecer un sistema nacional estandarizado que informe sobre las aves muertas y su posterior diagnóstico para entender la difusión, distribución, prevalencia y el impacto potencial del VON sobre las poblaciones silvestres colombianas (Ward *et al.* 2006). Además,

recomendamos fortalecer los laboratorios de diagnóstico para procesar especímenes con posible presencia de microorganismos con alto potencial zoonótico en el país (Male 2003).

El impacto a corto y largo plazo del VON sobre la vida silvestre, los animales domésticos y los humanos es incierto. La actual prevalencia de la enfermedad en mosquitos, aves, humanos y otros animales en el Neotrópico es también desconocida. Por lo tanto, se requiere entender la biología básica, coevolución e interacciones ambientales del virus, hospederos y vectores en las condiciones propias de la región Neotropical (Male 2003, Komar *et al.* 2005, Berrocal *et al.* 2006, Ward *et al.* 2006, Kilpatrick 2011).

Estudios como el nuestro, en la isla de San Andrés y otras regiones neotropicales, son importantes para establecer el potencial de la avifauna como posible vía de introducción del VON en el Caribe. Particularmente, sería de interés esclarecer el papel potencial de diseminadores de la enfermedad de aves como *Coereba flaveola*, ya que se han detectado aves positivas y personas seropositivas en otros lugares del Caribe como Jamaica, Santo Domingo y Puerto Rico (DuPuis II *et al.* 2003, Komar *et al.* 2005, Komar & Clark 2006). Finalmente, los investigadores de las ciencias de la salud animal y humana, biológicas y ambientales, entre otras, necesitamos trabajar juntos para desarrollar estrategias efectivas para la vigilancia y monitoreo de este tipo de agentes y las enfermedades que causan (Rappole *et al.* 2000, Male 2003, Marra *et al.* 2004, Komar *et al.* 2005, Rappole *et al.* 2006).

Agradecimientos

Agradecemos a la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo y la financiación. Agradecemos también al Programa de Monitoreo y Conservación de Aves Migratorias de la Fundación

ProAves y Conservación Internacional Colombia, financiado por Neotropical Migratory Bird Conservation Action Grant del Servicio de Pesca y Vida Silvestre de los Estados Unidos (U.S. Fish and Wildlife Service) y el Fondo para la Acción Ambiental y la Niñez (FPAA). Un agradecimiento especial a María Isabel Moreno, Juan Carlos Verhelst y Andrea Pacheco, por la asesoría y el apoyo en el trabajo de campo. Agradecemos a Nicholas Komar, de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, por su asesoría en el trabajo de laboratorio, por la donación de las pruebas comerciales utilizadas para este estudio y por su revisión y aportes al manuscrito. Gracias a Ruth Rojas, del Laboratorio Nacional de Insumos Pecuarios (LANIP) por facilitar los cultivos celulares y por su asesoría en el cultivo de las células. Salim Mattar de la Universidad de Córdoba brindó apoyo y motivación para realizar este trabajo. Bibiana Riaño y las demás personas de los Laboratorios de Virología y Cultivos Celulares de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia nos ayudaron en el procesamiento de las muestras. Karol Barragán, Néstor Varela, Javier Jaimes, Miguel Saggese, Humberto Álvarez-López, Daniel Cadena y Gary Stiles revisaron e hicieron aportes al manuscrito.

Literatura Citada

- BERROCAL, L., J. PEÑA, M. GONZÁLEZ & S. MATTAR. 2006. Virus del Oeste del Nilo: ecología y epidemiología de un patógeno emergente en Colombia. *Revista de Salud Pública* 8:218-228.
- DUPUIS II, A., P. MARRA & L. KRAMER. 2003. Serologic evidence of West Nile Virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerging Infectious Diseases* 9:860-863.
- GÓEZ-RVILLAS, Y., TABORDA, N., DÍAZ, F., GÓNGORA, A., RODAS, J., RUIZ-SÁENZ, J. & J. OSORIO. 2010. Antibodies to West Nile virus in equines of Antioquia and El Meta, Colombia. 2005-2008. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 23:462-470.
- HILTY, S. L. & W. L. BROWN. 2001. Guía de las Aves de Colombia. American Bird Conservancy – ABC, The Plains, Virginia, EUA.
- KILPATRICK, A. 2011. Globalization, land use, and the invasion of West Nile Virus. *Science* 334:323-327.
- KLENK, K. & N. KOMAR. 2003. Poor replication of West Nile Virus (New York 1999 Strain) in three reptilian and one amphibian species. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69:260-262.
- KOMAR, N. & G. CLARK. 2006. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Revista Panamericana Salud Pública* 19:112-117.
- KOMAR, N., R. LANCIOII, R. BOWEN, S. LANGEVIN & M. BUNNING. 2002. Detection of West Nile Virus in oral and cloacal swabs collected from bird carcasses. *Emerging Infectious Diseases* 8:741-742.
- KOMAR, O., M. ROBBINS, G. GUZMÁN, B. BENZ, K. KLENK, B. BLITVICH, N. MARLENEE, K. BURKHALTER, S. BECKETT, G. GONZÁLVEZ, C. PEÑA, A. PETERSON & N. KOMAR. 2005. West Nile Virus survey of birds and mosquitoes in the Dominican Republic. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 5:120-126.
- LAMPMAN, R., N. KRASAVIN, M. SZYSKA & R. NOVAK. 2006. A Comparison of two West Nile Virus detection assays (Taqman Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction and VecTest Antigen Assay) during three consecutive outbreaks in northern Illinois. *Journal of the American Mosquito Control Association* 22:76-86.
- LINCOLN, F., S. PETERSON & J. ZIMMERMAN. 1998. Migration of birds. U.S. Department of the Interior, U.S. Fish and Wildlife Service, Washington D.C., USA.
- LINDSAY, R., I. BARKER, G. NAYAR, M. DREBOT, S. CALVIN, C. SCAMMELL, C. SACHVIE, T. SCAMMELL-LA FLEUR, A. DIBERNARDO, M. ANDONOVA & H. ARTSOB. 2003. Rapid antigen-capture assay to detect West Nile Virus in dead corvids. *Emerging Infectious Diseases* 9:1406-1410.
- MALE, T. 2003. Potential Impact of West Nile Virus on American avifaunas. *Conservation Biology* 17: 928-930.
- MARRA, P., S. GRIFFING, C. CAFFREY, A. KILPATRICK, R. MCLEAN, C. BRAND, E. SAITO, A. DUPUIS, L. KRAMER & R. NOVAK. 2004. West Nile Virus and wildlife. *BioScience* 54:393-402.
- MATTAR, S., E. EDWARDS, J. LAGUADO, M. GONZÁLEZ, J. ALVAREZ & N. KOMAR. 2005. West Nile Virus antibodies in Colombian horses. *Emerging Infectious Diseases* 11: 1497-1498.
- MCLEAN, R. 2006. West Nile Virus in North American birds. *Ornithological Monographs*. 60:44-64.
- MCNISH, T. 2003. Lista de Chequeo de la Fauna Terrestre del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Colombia. M&B Producciones y Servicios Limitada. Bogotá, Colombia. Págs. 2-19.
- MORALES, A (ed.). 2005. Memorias Curso Ornitología, IV Curso de Técnicas de Monitoreo de Aves, Reserva El Pangán, Barbacoas, Nariño. Fundación ProAves, Bogotá, Colombia.
- MORALES, M., M. BARRANDEGUY, C. FABBRI, J. GARCÍA, A. VISSANI,

- K. TRONO, G. GUTIERREZ, S. PIGRETTI, H. MENCHACA, N. GARRIDO, N. TAYLOR, F. FERNANDEZ, S. LEVIS & D. ENRÍA. 2006. West Nile Virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerging Infectious Diseases* 12:Dispatch.
- NASCI, R., GOTTFRIED, K., BURKHALTER, K., KULASEKERA, V., LAMBERT, A., LANCIOTTI, R., HUNT, A. & J. RYAN. 2002. Comparison of vero cell plaque assay, TaqMan reverse transcriptase polymerase chain reaction RNA assay, and VecTest antigen assay for detection of West Nile virus in field-collected mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18:294-300.
- NEMETH, N., S. BECKETT, E. EDWARDS, K. KLENK & N. KOMAR. 2007. Avian mortality surveillance for West Nile Virus in Colorado. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76:431-437.
- OLANO, V., J. ZULUAGA & A. FRANCIS. 2004. Estudio Entomológico en el Territorio Insular de San Andrés, Providencia y Santa Catalina. En: *Memorias IX Encuentro Científico del Instituto Nacional de salud "Ciencia, Desarrollo y Salud: ayer, hoy y mañana"*. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.
- OWEN, J., F. MOORE, N. PANELLA, E. EDWARDS, R. BRU, M. HUGHES & N. KOMAR. 2006. Migrating birds as dispersal vehicles for West Nile Virus. *EcoHealth* 3:79-85.
- PANELLA, N., K. BURKHALTER, S. LANGEVIN, A. BRAULT, L. SCHOOLEY, B. BIGGERSTAFF, R. NASCI & N. KOMAR. 2005. Rapid West Nile Virus antigen detection. *Emerging Infectious Diseases* 11:1633-1635.
- RAFFAELE, H., J. WILEY, O. GARRIDO, A. KEITH & J. RAFFAELE. 2003. *Birds of the West Indies*. Princeton University Press, New Jersey, USA.
- RAPPOLE, J., S. DERRICKSON & Z. HUBALEK. 2000. Migratory birds and spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Emerging Infectious Diseases* 6:319-328.
- RAPPOLE, J. & Z. HUBÁLEK. 2003. Migratory birds and West Nile virus. *Journal of Applied Microbiology* 94:475-585.
- RAPPOLE, J., B. COMPTON, P. LEIMGRUBER, J. ROBERTSON, D. KING & S. RENNER. 2006. Modeling movement of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 6:128-139.
- REED, K., J. MEECE, J. HENKEL & S. SHUKLA. 2003. Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile Virus, Lyme Disease, Influenza A and enteropathogens. *Clinical Medicine & Research* 1:5-12.
- REMSEN, J., C. D. CADENA, A. JARAMILLO, M. NORES, J. PACHECO, J. PÉREZ-EMÁN, M. ROBBINS, T. SCHULENBERG, F. STILES, D. STOTZ & K. ZIMMER. 2011. A classification of the bird species of South America (version 23 March 2011). American Ornithologists' Union. URL: <http://www.museum.lsu.edu/~Remsen/SACCBaseline.html>
- SIRIN, M., C. SARGENT, R. LANGER, R. PARSONS, D. VANLANDINGHAM, S. HIGGS & R. TESH. 2004. Comparative sensitivity of the VecTest Antigen-Capture Assay, Reverse Transcriptase-PCR, and cell culture for detection of West Nile Virus in dead birds. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 4: 204-209.
- SOLER, D., V. VERA & J. JAIME. 2007. Fotografías aves San Andrés. *Boletín SAO*. 17:73-86.
- STONE, W., J. OKONIEWSKI, J. THERRIEN, L. KRAMER, E. KAUFFMAN & M. EIDSON. 2004. VecTest as diagnostic and surveillance tool for West Nile Virus in dead birds. *Emerging Infectious Diseases* 10:2175-2181.
- WARD, M., D. STALLKNECHT, J. WILLIS, M. CONROY & W. DAVIDSON. 2006. Wild bird mortality and West Nile Virus surveillance: Biases associated with detection, reporting, and carcass persistence. *Journal of Wildlife Diseases* 42:92-106.

Recibido: 24 de marzo de 2009. *Aceptado:* 28 de noviembre de 2011.