

# UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*



**“Seroprevalencia del Virus del Oeste del Nilo en Gaviotas Residentes y Migratorias del Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa, Lima, Perú”**

Tesis para optar el Título Profesional de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Jorge Manuel Armando Morales Cruz-Valderrama**

**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

LIMA - PERÚ

2017

A mi familia,  
en especial a mis padres y hermana,  
por su invaluable apoyo y cariño

## **AGRADECIMIENTO**

A los Doctores Roberto Kosmas Elías Piperis, y Víctor Javier Mamani Palomino, y al Tecnólogo Médico Roy Andrade Espinoza, por su dedicación para el éxito del presente trabajo.

## ABSTRACT

The West Nile Virus (WNV) belongs to the Flaviviridae family, *Flavivirus* genus. Its main way of transmission is the bite from mosquitos of the genus *Culex*. This virus produces an illness with characteristics similar to the flu, and can be mortal. Among the species affected we find humans, equine and birds, being this last group of great importance due to its role in the dissemination of this virus thanks to the their migration. The first report of this illness in humans was in Uganda (1937). Since that moment, it is been reported in almost every continent, being one of the most important the New York outbreak (1999-2000) because of the interoceanic migration of the virus and its rapid dissemination inside the American continent. The virus has been isolated in different countries in South America, but it still hasn't been reported in Peru, where there is one of the most important bird migration locations in the region, the Refuge of Wildlife Pantanos de Villa, hosting around 20 different migratory species every year. This refuge is especially important because it is located inside the urban zone in Lima, and it is in close contact with the city population, which would facilitate a probable dissemination of this virus. According to this, thirty blood samples of five different species from the genus *Larus*, including migratory (*L. pispicatus*) and resident species (*L. cirrocephalus*, *L. belcheri*, *L. dominicanus* y *L. modestus*) were tested using ELISA essay for the detection of antibodies against WNV, with no positive result. In conclusion, no presence of WNV has been detected in the Refuge of Wildlife Pantanos de Villa.

**Key words:** seagull, West Nile virus, *flavivirus*, *Culex* sp.

## RESUMEN

El virus del Oeste del Nilo (VON) pertenece a la familia Flaviviridae, género *Flavivirus*. La principal vía de transmisión de este virus es a través de la picadura de mosquitos del género *Culex*. Este virus produce una enfermedad similar a una gripe, que puede llegar a ser mortal. Entre las especies afectadas se encuentran los humanos, equinos y aves, siendo estas últimas de gran importancia debido a su papel en la diseminación del virus gracias a los procesos migratorios que realizan. El primer caso en humanos fue reportado en Uganda (1937). Desde entonces, se han reportado brotes en casi todos los continentes, siendo uno de los brotes más importantes el de Nueva York (1999-2000) debido a la migración interoceánica del virus y a su rápida dispersión por el continente americano. Se han aislado cepas en países de Sudamérica, pero aún no hay reportes en Perú, donde existe un sitio importante que recibe aves migratorias, el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa, que alberga a más de 20 especies de aves migratorias. Esta área natural protegida es especialmente importante debido a que está ubicado dentro de la zona urbana de Lima, por ende, está en estrecho contacto con la población de la ciudad, lo que haría más fácil una posible diseminación del VON. Dentro de este contexto, se tomaron muestras sanguíneas de 30 aves de cinco especies diferentes del género *Larus*, entre migratorias (*L. picipan*) y residentes (*L. cirrocephalus*, *L. belcheri*, *L. dominicanus* y *L. modestus*), las cuales fueron analizadas mediante un ensayo de ELISA para la detección de anticuerpos anti VON, resultando todas negativas. En conclusión, no existe presencia de VON en el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa.

**Palabras clave:** gaviotas, virus del Oeste del Nilo, flavivirus, *Culex* sp.

## INTRODUCCION

El virus del Oeste del Nilo (VON) pertenece al género *Flavivirus* y familia *Flaviviridae*, que incluye también a los virus que ocasionan el dengue, la fiebre amarilla y la encefalitis japonesa (Rossi *et al.*, 2010; Cabezas, 2011; Vanlerberghe y Verdonck, 2013). Mide de 45 a 50 nm (Antinoff y Chen, 2010), de estructura icosaédrica, con una cápside que encierra una cadena positiva de ARN positiva con aproximadamente 12 000 nucleótidos (Petersen y Roehrig, 2001; Phalen y Dahlhausen., 2004).

Según su genoma, se divide en cinco líneas. La línea 1A es responsable de los brotes de Norteamérica, Europa, Medio Oriente y África; y cursa con una enfermedad neurológica severa. La línea 1B se detectó en Australia y Papúa Nueva Guinea; y la línea 1C, en la India; cursan con una enfermedad leve y autolimitante. La línea apareció en África y causa signos clínicos leves (Petersen y Roehrig, 2001; Phalen y Dahlhausen, 2004; OIE, 2013; Ziegler *et al.*, 2013); mientras que las líneas 3, 4 y 5 se aislaron en un brote en España y aún no han sido bien estudiados (Rossi *et al.*, 2010; Mishra *et al.*, 2012; Pradier *et al.*, 2012).

El ciclo de vida del VON involucra principalmente a mosquitos y aves (Nash *et al.*, 2001; Sá e Silva *et al.*, 2013). Cuando el mosquito se alimenta de la sangre de un ave con viremia, el virus es amplificado en las glándulas salivares del mosquito; proceso que dura aproximadamente dos semanas y depende, al parecer, de factores como la temperatura y humedad (Pradier *et al.*, 2012).

Un ave se infecta cuando es picada por un mosquito infectado, frecuentemente del género *Culex* (Antinoff y Chen, 2010) y entra en proceso de viremia entre 2 y 7 días según la especie, ya que aves del orden de los Passeriformes, Charadriiformes, Strigiformes y Falconiformes pueden desarrollar concentraciones más altas del virus en sangre y por más tiempo; mientras que

Columbiformes, Piciformes y Anseriformes no lo hacen (Phalen y Dahlhausen., 2004; Hayes *et al.*, 2005).

Los signos clínicos varían desde la enfermedad neurológica hasta la muerte súbita, pudiendo durar desde unas horas hasta algunos días. Algunas aves permanecen con secuelas neurológicas luego de la resolución de la enfermedad. Entre los signos encontramos ataxia, temblores, postura anormal de la cabeza, giros y convulsiones, letargia, pérdida de apetito y de consciencia (Garmendia *et al.*, 2001; Phalen y Dahlhausen., 2004; Dauphin y Zientara, 2007). A la necropsia, se ha encontrado hemorragia intraósea del cráneo, meninges y del tracto gastrointestinal. También se ha reportado esplenomegalia; isquemia cardíaca y diferentes lesiones microscópicas en cerebro, corazón, páncreas, intestinos y bazo (Antinoff y Chen, 2010).

La infección puede confirmarse al aislar el virus por medio de hisopados orales o cloacales, de cerebro, corazón, riñones, hígado, pulmones y bazo, así como con PCR de estos tejidos o mediante una prueba de ELISA disponible comercialmente. Los anticuerpos neutralizantes del virus son detectados, en la mayoría de aves, dentro de los 14 días de infección, y pueden permanecer por varios meses, incluso años luego de la infección inicial (Antinoff y Chen, 2010).

En humanos, aproximadamente el 80% de las infecciones son asintomáticas, mientras que menos del 1% de infecciones que duran alrededor de 7 días, cursan con fiebre ligera, dolor de cabeza, mialgias, náuseas, vómitos y escalofríos; con sarpullido en brazos, piernas y/o tronco. Algunas personas han mostrado signos similares a los de la poliomielitis, encefalitis, meningitis y parálisis flácida aguda, temblores, mioclonías, inestabilidad postural, bradiquinesia y signos parkinsonianos (Bledsoe, 2004; Rossi *et al.*, 2010; Papa, 2013).

El primer aislamiento de VON tuvo lugar en una mujer en Uganda en 1937 (Smithburn *et al.*, 1940). Desde entonces, se han detectado varios brotes, siendo los más notables los de Israel, Francia,

Sudáfrica y otros países de Europa, afectando a miles de personas, cada vez con peores signos clínicos y mayor número de muertes en las especies infectadas (Tber, 1996; Hubalek y Halouzka, 1999; Asnis *et al.*, 2000; Komar, 2001; Pradier *et al.*, 2012).

La relación genética entre los virus aislados en Israel y en Estados Unidos, y la rápida aparición entre brotes, sugieren que el virus proviene del Medio Oriente. Algunas hipótesis sostienen que el ingreso del VON al hemisferio occidental se debe a la migración de aves intercontinental, su importación, legal o ilegal, y menos probable, la migración de personas, mosquitos u otros animales infectados (Rappole *et al.*, 2000; Petersen y Roehrig, 2001; Malkinson *et al.*, 2002).

La migración es un proceso gran importancia ecológica, científica y económica (Levey y Gary Stiles, 1994; Pérez-Tris y Santos, 2004). La propagación del VON dentro de Estados Unidos fue desde Nueva York hacia el norte, donde tuvo lugar un brote en primavera y principios de verano; mientras que al sur, el brote se dio a finales de verano y en otoño; patrones que corresponden a la migración de aves, convirtiéndola en la teoría más explicativa de la diseminación del VON (Petersen y Roehrig, 2001; Komar y Clark, 2006). Luego de este brote, en sólo cuatro años, el virus llegó a la mayoría de Estados Unidos, sur de Canadá, México y el Caribe; y de ahí al sur del continente debido a la migración de aves infectadas (Rappole *et al.*, 2000; Petersen *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2010). En Sudamérica, aún no se sabe si el virus es autoperpetuable. Se ha detectado la presencia en suero de antígenos contra este virus, tanto en aves como en caballos, en Colombia, Venezuela, Brasil y Argentina, con prevalencias que van desde el 4% hasta el 16% (Mattar *et al.*, 2005; 2011; Bosch *et al.*, 2007; Pauvolid-Corréa *et al.*, 2011; Melandri *et al.* y Tauro *et al.*, 2012).

Más de 20 especies de aves migratorias llegan todos los años a la costa peruana provenientes de todo el continente americano (norte y sur) y los Andes (Iannacone *et al.*, 2010). Estas aves tienen predilección por ciertas zonas, dentro de las cuales se encuentran los humedales ya que brindan buenas características climatológicas, alimento y descanso. En estos lugares tienen contacto con especies



residentes, pudiendo intercambiar algunos patógenos; siendo uno de estos el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa, nombrado sitio RAMSAR desde 1997, con especial importancia ya que es el único humedal en zona urbana en Lima, y en este, se pueden observar aves migratorias y residentes compartiendo el mismo hábitat, además de algunas otras especies domésticas (caballos, aves de corral, etc.), así como asentamientos humanos en la zona de amortiguamiento de dicha área natural protegida, haciendo más fácil la transmisión de enfermedades zoonóticas cuyo ciclo involucra tanto a aves como mamíferos (SERNANP, 2013). Lamentablemente, su extensión ha disminuido a medida que la urbanización avanza, por lo no sólo las aves son más propensas a ubicarse en zonas urbanas, sino que es mayor la población humana expuesta a potenciales patógenos provenientes de estas aves (Pulido, 2003; Torres *et al.*, 2006; Iannacone *et al.*, 2010; McKenzie y Goulet, 2010; SERNANP, 2013).

A pesar que Perú cuenta con varios factores de riesgo para el establecimiento del VON como la detección de anticuerpos contra el virus en otros países de Sudamérica, las especies de mosquitos, la presencia de aves migratorias y residentes y su interacción con otras especies, factores climatológicos, entre otras; no existen reportes de este virus en el país. Es por esta razón, y por su importancia tanto en la conservación de las especies migratorias y residentes, como de la salud pública, es que se realizó el presente estudio, cuyo fin fue determinar la exposición del VON en distintas especies de gaviotas migratorias y residentes en el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Localización y Tiempo del Estudio*

Las muestras para el estudio fueron tomadas en el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa ubicado en el distrito de Chorrillos, provincia de Lima, departamento de Lima ( $12^{\circ}12'LS$  y  $76^{\circ}59' LW$ ) (Iannacone *et al.*, 2010).

Luego de ser tomadas las muestras sanguíneas, estas fueron procesadas en los laboratorios de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El estudio se llevó a cabo entre los meses de enero y julio de 2009.

### *Tipo de Estudio*

Se realizó un estudio exploratorio.

### *Tamaño de Muestra*

La muestra seleccionada fue de 30 gaviotas. Dentro de las especies que estaban incluidas en la misma, solo *L. pispican* (7) es especie migratoria; mientras que *L. cirrocephalus* (2), *L. belcheri* (9), *L. dominicanus* (8) y *L. modestus* (4) son especies residentes. Para su captura, se utilizaron 6 trampas bal-chatri, colocadas en sitios estratégicos (Day, 1987).

### *Procesamiento de Muestras*

Una vez que las aves fueron capturadas se procedió al examen físico. Se tomaron muestras de sangre, extraídas por punción de la vena yugular o ulnar, sin exceder el 1% de su peso corporal (Ritchie y Carter, 1995). La sangre fue almacenada en tubos estériles de colecta, colocados en forma horizontal. Estas muestras se mantuvieron refrigeradas (caja térmica con hielo) hasta ser trasladadas al laboratorio en el lapso del día. Luego fueron procesadas en los laboratorios de la universidad, donde se procedió al centrifugado de la sangre obtenida para separar el suero (10 000 rpm durante 10 min a 4°C), el cual se extrajo con una pipeta Pasteur plástica, y colocó en criotubos de plástico estéril. Los sueros fueron conservados en congelación hasta su procesamiento (Machain-Williams *et al.*, 2013).

### *Prueba de Elisa Epítotope por Bloqueo*

De acuerdo Machain-Williams *et al.* (2013), para este procedimiento se utilizó un anticuerpo monoclonal específico para VON (MAb) 3.112G (Chemicon Interntional, Temecula, California, USA) y una cobertura del antígeno preparada de cultivos celulares de *Aedes albopictus* infectados con VON (C6/36).

Se cubrieron los pozos de una microplaca con 100 µl de antígeno diluido en amortiguador de bicarbonato de sodio (50mM de bicarbonato de sodio, pH de 9.6) y el sobrenadante de cultivo celular no infectado fue utilizado como antígeno control. Estas placas se incubaron una noche a 4°C y después se lavaron con 250 µl de amortiguador de lavado (PBS). A cada uno de los pozo se les agregaron 200 µl de amortiguador bloqueador (PBS con 5.0% de leche en polvo descremada) y se incubaron por 40 minutos a 37°C. Luego, a cada pozo se le añadieron 50 µl de suero de ave diluido (1:10), y se incubaron por dos horas a 37°C (Machain-Williams *et al.*, 2013).

Seguido a esto, los pozos de lavaron seis veces más con 250 µl de amortiguador lavado; y se incubaron por una hora más a 37°C, con anticuerpo monoclonal contra la proteína NS1 de VON (3.1112G), diluido en amortiguador bloqueador (1:2000) y se agregaron a cada pozo (50µl). Después se incubaron los pozos por una hora a 37°C. Luego las placas se lavaron y se añadieron 50 µl de peroxidasa de rábano conjugada con IgG anti-ratón preparada en conejo, a una dilución 1:2000 en cada pozo, y otra vez se incubó por una hora a 37°C. Posterior a esto, los pozos se lavaron nuevamente seis veces con amortiguador de lavado. Se mezclaron volúmenes iguales de ABTS {(ácido 2,2´azinobis {etilbenzotiazolino-6-solfónico)} y soluciones de peroxidasa del sistema sustrato peroxidasa y de esta solución se tomaron 5 ml que se añadieron a cada pozo (KPL: Gaithersburg, MD).

El porcentaje de inhibición se determinó cuando la media de densidad óptica en los pozos que contenían suero control era mayor de 0.3. Un valor de inhibición  $\geq 30\%$ , se considerará indicador de la presencia de anticuerpos virales.

#### *Análisis Estadístico*

Los resultados obtenidos se llevaron a una base en el programa Microsoft Office Excel. La información fue resumida en base a estadística descriptiva, calculándose medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar, valores máximos y mínimos, y el coeficiente de variación).

## RESULTADOS

De las cinco especies de gaviotas muestreadas para esta investigación, sólo una es considerada especie migratoria, mientras las demás son especies residentes. Ninguna de las especies en cuestión mostró resultados positivos a la prueba de ELISA Epítotope por Bloqueo, por lo que no hubo presencia de anticuerpos contra VON en dichas aves.

Cuadro 1. Resultados de pruebas serológicas realizadas en especies aviarias del Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa (Lima, Perú) entre enero y julio del 2009

Especie de ave	Condición	Total Individuos (n)	Seropositivos	Seronegativos
<i>Larus pipixican</i>	Migratoria		0	7
<i>Larus cirrocephalus</i>	Residente		0	2
<i>Larus belcheri</i>	Residente		0	9
<i>Larus dominicanus</i>	Residente		0	8
<i>Larus modestus</i>	Residente		0	4
		30	0	30

## DISCUSION

A pesar que VON es el único flavivirus zoonótico identificado en casi todos los continentes y de las exposiciones de animales al virus en países fronteras y circundantes a Perú como Venezuela, Argentina, Colombia y Brasil (Komar y Clark, 2006; Bosch *et al.*, 2007; Mattar *et al.*, 2011; Pauvolid-Corréa *et al.*, 2011; Melandri *et al.*, 2012; Tauro *et al.*, 2012); así como la presencia de vectores, aves migratorias y residentes interactuando entre sí y con otras especies domésticas, así como factores climatológicos (Hayes *et al.*, 2005) no existe literatura científica que compruebe la presencia de anticuerpos contra VON ni la presencia del mismo virus en aves ni en ninguna otra especie en el Perú, tal y como se comprueba hasta la fecha de colectadas las muestras.

Si bien es cierto, en el brote de Estados Unidos se detectaron algunas especies de gaviotas afectadas, como *Larus atricilla*, *L. delawarensis*, *L. argentatus* (Garmendia *et al.*, 2001; Phalen y Dahlhausen., 2004; Dauphin y Zientara, 2007), no ocurrió lo mismo en el presente estudio al estudiar estas especies, incluida una migratoria proveniente de norteamérica, *L. pipixcan*. A pesar que la hipótesis más relevante en la actualidad sobre la diseminación del VON es la migración de aves, y fue tomada en consideración para la metodología de este estudio, existen autores que discrepan con esto.

Pradier *et al.* (2012) sostienen que es difícil que el virus se haya propagado mediante la migración debido a que el proceso de viremia, estado en la que un ave puede infectar con VON a un mosquito, dura un promedio de 3 a 4 días, en un rango de 2 a 7 días máximo; mientras que una migración rápida dura entre 15 y 20 días. Según esto, existe la posibilidad que el virus aún no llegue a

ciertas zonas del continente debido a que las aves migratorias infectadas con cepas muy virulentas probablemente estén muy enfermas para migrar distancias muy largas; mientras que aquellas que si logran migrar probablemente estén infectadas con cepas avirulentas, siendo estas las cepas diseminadas (Komar y Clark, 2006).

Por otro lado, existen autores que sostienen que el proceso de migración podría alargar la duración de la viremia debido a los cambios fisiopatológicos que sufren las aves durante el viaje, lo que podría explicar la llegada del VON a Sudamérica. Komar y Clark (2006) sugieren que especies del orden Charadriiformes, orden que ha sido reportado como afectado en un brote en Estados Unidos de América (Garmendia et al., 2001), son candidatos elegibles para transportar el virus entre Norte y Sudamérica debido a su largo periodo de viremia. Díaz *et al.* (2008) sostiene que si se logra comprobar que especies de la familia Fumariidae son hospederos competentes, podrían cumplir un rol importante en la diseminación del VON en Argentina por medio de la migración debido a su frecuente exposición al virus. Bosch *et al.* (2007) soportan la teoría de la migración en su investigación en Venezuela, debido a que el establecimiento del virus, mas no la importación, es la razón que explicaría la variedad de seroprevalencia de VON en aves y caballos en ese país, influenciada por los factores ecológicos de las zonas afectadas, dado que el ciclo de vida de los mosquitos está influenciado por el clima y la temperatura (Pradier *et al.*, 2012).

La ecología y diversidad de especies ubicadas en una sola locación pueden afectar la transmisión del VON, ya que a mayor cantidad de especies de las cuales alimentarse, los mosquitos ejercen un efecto de dilución de la enfermedad (Pradier *et al.*, 2012). Es decir, en un lugar como el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa, en cuyos alrededores existen tanto aves migratorias que viven en zonas endémicas de Estados Unidos de América, y como residentes, así como especies de aves susceptibles y resistentes al virus, hospederos finales como caballos, humanos y otros mamíferos; existe tanta oferta de alimento para las especies de mosquito, que la carga infectiva de estos sería

menor, evitando así infectar animales sanos. Es por esto que, en el caso algunos países de Sudamérica, el tráfico de aves, tanto legal como ilegal, es una hipótesis que está tomando cada vez más fuerza, junto con el transporte de mosquitos u otros animales infectados (Pradier *et al.*, 2012).

De las especies de aves que fueron muestreadas en este proyecto, *L. pipixcan*, es la única con una ruta migratoria que va por todo lo largo de todo el continente americano (Burger *et al.*, 2010). En Norteamérica, ha sido reportada en Canadá, en las provincias de Saskatchewan, Alberta, Manitoba; y en Estados Unidos, en los estados de Oregon, Utah, Wyoming, Idaho, Iowa, Dakota del Norte y del Sur, Alaska, Kansas, California y Minnesota (Rudolph, 2011). De los estados mencionados, según la CDC (2016), se han reportados tanto animales como personas infectados en todos los estados con excepción de Alaska, lo que la convierte en una gran candidata para que ingrese el VON al Perú.

Sí se ha detectado la presencia de otros flavivirus relacionados al VON en Perú, como aquellos que ocasionan el dengue y la fiebre amarilla, así como algunas especies de mosquitos encargadas de su transmisión, lo cual puede estar menguando el potencial patógeno del VON (Bosch *et al.*, 2007). Ambas enfermedades mencionadas son de especial interés en este país debido a la cantidad de afectados que ocasionan anualmente, razón por la cual existe una gran variedad de programas, tanto del gobierno así como privados, dedicados a la prevención e investigación de estos virus y su comportamiento (Cabezas, 2011).

El dengue es transmitido por la picadura del mosquito *Aedes aegypt*, el cual convive con los humanos, y gracias a deficientes medidas de salubridad influenciadas por el nivel socio-económico de la población susceptible, es considerado un grave problema para el control de la enfermedad (Cabezas, 2011; Vanlerberghe y Verdonck, 2013). Esta especie de mosquito, junto con algunas especies del género *Culex*, como *C. univittatus*, *C. pipiens*, *C. quinquefasciatus* y *C. tarsalis*, han demostrado tener



transmisión vertical de VON (Hayes *et al.*, 2005; Pradier *et al.*, 2012), lo cual es un factor importante a considerar en la diseminación y establecimiento del VON en el Perú, ya que las especie *A. aegypt*, y *C. pipiens* se encuentran en la mayoría del territorio peruano, siendo especialmente importante su presencia en los departamentos de Piura, Lima, Callao y Lambayeque (León y García, 2007), que son distritos donde también se ha reportado la presencia de *L. pipixcanya* que se encuentran en su ruta migratoria (Burger *et al.*, 2010).

El VON es una enfermedad de preocupación para la salud pública debido a que es uno de los virus con mayor distribución geográfica y diversidad ecológica, con una gran cantidad de vectores y formas de transmisión, así como distintos tipos de hospederos (Hayes *et al.*, 2005; Pradier *et al.*, 2012). A pesar que no existen reportes en Perú de la enfermedad, sí se cuenta con factores de riesgo permanentes para el establecimiento del virus. Esto significa que se deben tomar medidas preventivas ante esto, y los programas que existen para la prevención del dengue y la fiebre amarilla son buenos ejemplos a seguir (Cabezas, 2011; MINSA, 2013). A esto se le puede aumentar el monitoreo constante no sólo de especies de aves, sino también de caballos, que al ser especies que no llegan a infectar mosquitos por sus niveles de viremia, pero sí enferman y mueren a causa del VON, son consideradas como especies centinelas para estos casos (Mattar *et al.*, 2011; Pradier *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONES

No se encontró presencia de anticuerpos contra el Virus del Nilo en aves migratorias y residentes muestreadas pertenecientes a las especies *Larus pipixcan*, *L. cirrocephalus*, *L. belcheri*, *L. dominicanus* y *L. modestus* en el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa, en Lima – Perú.

## RECOMENDACIONES

Aumentar el tamaño de muestra y monitorear otras especies de aves migratorias durante diferentes estaciones del año en el Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa.

Realizar estudios de seroprevalencia en otros lugares de la costa peruana donde ocurra interacción entre aves migratorias y residentes.

Detectar la exposición frente a otros *Arbovirus* de importancia zoonótica en aves migratorias y residentes de. Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa.

Realizar estudios para la detección del virus VON en mosquitos *Culex* hematófagos del Refugio de Vida Silvestre Pantanos de Villa.

## BIBLIOGRAFIA

1. Antinoff N, Chen S. Avian Jeopardy-Rpund 2: Unique Features and Diseases of Birds. 2010. Proceedings of the Association of Avian Veterinarians. California, USA.
2. Asnis DS, Conetta R, Teixeira AA, Waldman G, Sampson BA. The West Nile Virus Outbreak of 1999 in New York: The Flushing Hospital Experience.2000. Clin. Infect. Dis. 30(3):413-418.
3. Bledsoe GH. The West Nile Virus: A Lesson in Emerging Infections.2004. Wilderness and Environmental Medicine. 15:113-118.
4. Bosch I, Herrera F, Navarro JC, Lentino M, Dupuis A, Maffei J, *et al.* West Nile Virus, Venezuela. 2007. Emerging Infectious Diseases. 13(4):651-3.
5. Burger J, Gochfeld M, Ridgely R. Migratory Behavior of Franklin's Gulls (*Larus pipixcan*) in Peru. 2010. Energy and Power Engineering. 2:143-147.
6. Cabezas C. 21 años de la re-emergencia del Dengue en el Perú: una enfermedad crónicamente anunciada. 2011. Diagnostico. 50(3): 157-165.
7. [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2016. West Nile Virus Activity by State – United States, 2015 (as of January 12, 2016). . [Internet] [acceso 21 febrero 2016]  
  
Disponible en:  
  
<http://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata/activitystatedate.html>
8. Changbunjong T, Weluwanarak T, Toawan N, Suksai P, Sedwisai P, Chamsai T, *et al.* Mosquito distribution and West Nile virus infection in zoos and in important sites of migratory and resident birds, Thailand.2012. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 268-272.

9. Dauphin G, Zientara S. West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development.2007. *Vaccine*. 25:5563-5576.
10. Diaz LA, Komar N, Visitin A, Juri MJD, Stein M, Allende RL, *et al.* West Nile Virus in Birds, Argentina.2008. *Emerging Infectious Diseases*. 14(4):689-691.
11. Garmendia AE, Van Kruiningen HJ, French RA. The West Nile virus: its recent emergence in North America.2001. *Microbes and Infection*. 2:223-229.
12. Hayes EB, Komar N, Nasci RS, Montgomery SP, O'Leary DR, Campbell GL. Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease.2005. *Emerging Infectious Diseases*. 11(8):1167-1173.
13. Hubálek Z, Halouzka J. West Nile Fever – a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe. 1999. *Emerging Infectious Diseases*. 5(5):643.
14. Iannaconne J, Atasi M, Bocanegra T, Camacho M. Diversidad de aves en el humedal Pantanos de Villa, Lima, Perú: periodo 2004-2007. 2010. *Biota. Neotrop*. 10(2):295-305.
15. Komar N. West Nile virus surveillance using sentinel birds. 2001. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 951:58–73
16. Komar N, Clark GG. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. 2006. *Rev. Panam. Salud Pública*. 19(2):112-7.
17. Laperriere V, Brugger K, Rubel F. Simulation of the seasonal cycles of bird, equine and human West Nile virus cases.2011. *Preventive Veterinary medicine*. 99-110.
18. León W, García N. 2007. PERU: Mapa Entomológico de Vectores de Importancia de Salud Pública – 2007. [INS] Instituto Nacional de Salud. [Internet] [acceso 21 febrero 2016]  
Disponibile en:  
[http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp\\_resvecins\\_principal/MapaEntomologicoVectores2007.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resvecins_principal/MapaEntomologicoVectores2007.pdf)

19. Levey DJ, Stiles FG. Variabilidad de recursos, hábitat y movimientos estacionales en aves neotropicales: implicaciones para la evolución de la migración a larga distancia. 1994. *Bird Conservation International*. 4(2-3):109-113.
20. Machain-Williams C. Antibodies to West Nile virus in wild and farmed crocodiles in southeastern Mexico. *J Wildl Dis*. 2013 Jul; 49 (3): 1-6.
21. Malkinson M, Banet C, Weisman Y, Pokamunski S, King R. Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. 2002. *Emerging infectious diseases*. 8(4):392.
22. Mattar S, Edwards E, Laguado J, González M, Alvarez J, Komar N. West Nile virus antibodies in Colombian horses. 2005. *Emerg Infect Dis*. 9:1497-1498.
23. Mattar S, Komar N, Young G, Alvarez J, Gonzalez M. Seroconversion for West Nile and St. Louis encephalitis viruses among sentinel horses in Colombia. 2011. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 206(8):976-979.
24. McKenzie VK, Goulet NE. Bird Community Composition Linked to Human West Nile Virus Cases Along the Colorado Front Range. 2010. *Eco Health*. 7(4):439-447.
25. Melandri V, Guimarães AE, Komar N, Nogueira NL, Mondini A, Fernandez-Sesma A, *et al*. Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil. 2012. *Mem.Inst. Oswaldo Cruz*. 107(8):1073-1075.
26. Mishra N, Kalaiyarasu S, Nagarajan S, Rao MVS, George A, Sridevi R, *et al*. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 2012. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 35:591-598.
27. [MINSA] Ministerio de Salud del Perú. 2013. Gestión de Riesgo del Dengue. [Internet] [acceso 16 enero 2015]  
Disponible en:  
[http://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion\\_254.asp#](http://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_254.asp#)
28. Nash D, Mostashari D, 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. 2001. *N. Engl. J. med*. 344:1807-1814.

29. [OIE] World Organisation for Animal Health.2013. West Nile Fever.12p.
30. Papa A. West Nile virus infections in humans – Focus on Greece. 2013. Journal of Clinical Virology. 58:351-353.
31. Pauvolid-Corrêa A, Morales MA, Levis S, Figueiredo LTM, Couto-Lima D, Campos Z, *et al.* Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. 2011. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 106(4):467-474.
32. Pérez-Tris J, Santos T. El estudio de la migración de aves en España: trayectoria histórica y perspectivas del futuro. 2004. Ardeola. 51(1):71-89.
33. Petersen LR, Marfin AA. West Nile virus: a primer for the clinician.2002. Annals of internal medicine. 137(3):173-179.
34. Petersen LR, Roehring JT. West Nile Virus: A reemerging global pathogen.2001. Rev. Biomed. 12:208-216.
35. Pesko KN, Ebel GD. West Nile virus population genetics and evolution.2012. Infection, Genetics and Evolution. 12:181-190.
36. Phalen DN, Dahlhausen B. West Nile Virus. 2004. Seminars in Avian and Exotic Pet medicine. 13(2):67-78.
37. Pradier S, Lecollinet S, Leblond A. West Nile virus epidemiology and factor triggering change in its distribution in Europe. 2012. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 31(3):829-844.
38. Pulido V. Influencia de la pérdida de hábitat en la conservación de las aves de los Pantanos de Villa. 2003. Tesis para optar por el grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas. UNMSM.
39. Rappole JH, Derrickson SR, Hubálek Z. Migratory Birds and Spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere. 2000. Emerging Infectious Diseases. 6(4):319-328.
40. Reed KD, Meece JK, Henkel JS, Shukla SK. Birds, Migration and Emerging Zoonoses: West Nile Virus, Lyme Disease, Influenza A and Enteropathogens. 2003. Clinical Medicine & Research. 1(1):5-12.
41. Rossi SL, Ross TM, Evans JD. 2010. West Nile Virus. Clin. Lab.*et al* Med. 30:47-65.

42. Rudolph H. 2011. "Larus pipixcan", Animal Diversity Web.[Internet] [acceso 21 febrero 2016]
- Disponible en:
- [http://animaldiversity.org/accounts/Larus\\_pipixcan/#D99624F1-7ADE-4928-83A6-F197B9AA6996](http://animaldiversity.org/accounts/Larus_pipixcan/#D99624F1-7ADE-4928-83A6-F197B9AA6996)
43. Sá e Silva M, Ellis A, Karaca K, Minke J, Nordgren R, Wu S, *et al.* Domestic goose as a model for West Nile virus vaccine efficacy. 2013. *Vaccine*. 31:1045-1050.
44. Sardelis MR, Turell MJ, Dohm DJ, O'Guinn ML. Vector Competence of Selected North American Culex and Coquillettidia Mosquitoes for West Nile Virus. 2001. *Emerging Infectious Diseases*. 7(6):1018-1022.
45. [SERNANP] Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado. 2013. Humedales en Áreas Naturales Protegidas, Fuentes de vida y desarrollo. 16p.
46. Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. 1940. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 20:471-492.
47. 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. 2000. *Vet. Pathol*. 37:208-224.
48. Tauro L, Marino B, Diaz LA, Lucca E, Gallozo D, Spinsanti L, *et al.* Serological detection of St. Louis encephalitis virus and West Nile virus in equines from Santa Fe, Argentina. 2012. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 107(4):553-556.
49. Tber, A. A. West Nile fever in horses in Morocco. 1996. *OIE* 108:867-869.
50. Torres M, Quinteros Z, Takano F. Variación temporal de la abundancia y diversidad de aves limícolas en el refugio de vida silvestre Pantanos de Villa, Perú. 2006. *Ecol. Apl.* 5(1-2):119-125.
51. Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm DJ, Jones JW. Vector Competence of North American Mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus. 2001. *Journal of Medical Entomology*. 38(2):130-134.



52. Venlerberghe V, Verdonck K. La inequidad en salud: el caso del dengue. 2013. Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública. 30(4): 683-6.
53. Wang T, Fikrig E. Immunity to West Nile virus. 2004. Current Opinion in Immunology. 16:519-523.
54. Ziegler U, Angenwoort J, Fischer D, Fast C, Eiden M, Rodriguez AV, *et al.* Pathogenesis of West Nile virus lineage 1 and 2 in experimentally infected large falcons. 2013. Veterinary Microbiology. 161:263-273.