

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO EN  
EQUINOS EN LA REGIÓN DEL ESTADO DE DURANGO.**

**POR**

**BRAYAN ANTONIO BASHKOZ NAVARRO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MEXICO**

**SEPTIEMBRE DEL 2005**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO EN  
EQUINOS EN LA REGIÓN DEL ESTADO DE DURANGO.**

**TESIS**

**POR:**

**BRAYAN ANTONIO BASHKOZ NAVARRO**

**ASESOR:**

**M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA**

**COLABORADOR:**

**M.V.Z. JOSÉ LUIS GÜEMEZ JIMÉNEZ**

**TORREÓN, COAHUILA, MEXICO**

**SEPTIEMBRE DEL 2005**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**POR:**

**BRAYAN ANTONIO BASHKOZ NAVARRO**

**ASESOR:**

**MVZ. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA**

**TORREÓN, COAHUILA, MEXICO**

**SEPTIEMBRE DEL 2005**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO  
NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TESIS

IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO EN  
EQUINOS EN LA REGIÓN DEL ESTADO DE DURANGO.

APROBADO POR EL COMITÉ PARTICULAR DE  
ASESORIA

PRESIDENTE DEL JURADO

M.V.Z. ERNESTO MARTINEZ ARANDA

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL

M.V.Z ERNESTO MARTINEZ ARANDA



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO  
NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO EN  
EQUINOS EN LA REGIÓN DEL ESTADO DE DURANGO.



---

M.V.Z. ERNESTO MARTINEZ ARANDA  
PRESIDENTE

---

MVZ. JOSÉ LUIS GÜEMES JIMÉNEZ  
VOCAL



---

MC. SERGIO IGNACIO BARRAZA ARAIZA  
VOCAL



---

M.V.Z. Ma GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO  
VOCAL SUPLENTE

## **AGRADECMIENTOS**

### **A DIOS**

**POR DARMER LA VIDA, POR SER MI GUIA, MI FUERZA Y DARLE SENTIDO A MI VIDA**

### **UAAAN-UL**

**POR PERMITIRME SER PARTE DE ELLA, Y DARMER LA OPORTUNIDAD DE FORMARME PROFESIONALMENTE.**

### **AGRADECMIENTO ESPECIAL**

**AL CONSEJO ESTATAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA (COECYT) DEL ESTADO DE COAHUILA POR OTORGARME EL ESTIMULO QUE PROPORCIONAN EN SU PROGRAMA " BECA TESIS 2005 ", QUE SIRVIO PARA COSTEAR LOS GASTOS OCACIONADOS POR LA REALIZACIÓN DE LA TESIS.**

### **ASESOR**

**M.C. ERNESTO MARTINEZ ARANDA POR HABERME DADO LA OPORTUNIDAD DE REALIZAR ESTA TESIS, ASI COMO HABERME BRINDADO SU AMISTAD Y CONFIANZA.**

### **JURADO**

**POR SUS SUGERENCIAS, OBSERVACIONES Y CORRECCIONES EN LA REVISIÓN DE ESTE TRABAJO, A TODOS MUCHAS GRACIAS.**

## **DEDICATORIAS**

### **A MIS PADRES Y HERMANOS**

**POR SU APOYO Y AMOR INCONDICIONAL QUE ME HAN PROPORCIONADO, CONFIANZA, CARIÑO, POR CADA INSTANTE QUE HEMOS VIVIDO JUNTOS SEAN ESTOS BUENOS Y MALOS, POR PERMANECER SIEMPRE FIRMES Y UNIDOS Y ENSEÑARME QUE NUNCA DARSE POR VENCIDO NO ES UNA OPCION.**

### **A MI ESPOSA E HIJOS**

**HILDA CORTES HERNÁNDEZ, JUAN ANTONIO BASHKOZ CORTES, XCARET BASHKOZ CORTES. POR LA CONFIANZA Y AMOR QUE ME HAN DADO Y SER INSPIRACIÓN Y ADMIRACIÓN ASI COMO SER UNA DE LAS RAZONES MAS IMPORTANTES PARA SER MEJOR EN LA VIDA, LOS AMO.**

### **A MI IGLESIA PIEDRA ANGULAR Y COMUNIDAD CRISTIANA**

**POR ESTAR SIEMPRE CON MIGO EN LAS BUENAS Y LAS MALAS DARME SU AMOR Y SU APOYO INCONDICIONAL Y ENSEÑARME UN NUEVO ESTILO DE VIDA, POR SER UNA BENDICION EN MI VIDA, DIOS LOS BENDIGA**

### **A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS**

**POR HACER DE ESTA ETAPA DE MI VIDA EXTRAORDINARIA E INOLVIDABLE, EN ESPECIAL A LA FAMILIA BASHKOZ: RODOLFO, JESÚS, BETI, POR SOPORTARME Y ESTAR CON MIGO EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS.**

**A KAREN IVETTE AGUILAR ROMERO POR SER UNA EXCELENTE AMIGA Y MAURO GRANADOS SANCHES. DIOS LOS BENDIGA.**

# INDICE GENERAL

	Página
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>I</b>
<b>DEDICATORIAS</b>	<b>II</b>
<b>INDICE GENERAL</b>	<b>III</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>VII</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>JUSTIFICACION</b>	<b>3</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
<b>HIPOTESIS</b>	<b>3</b>
<b>HIPÓTESIS NULA</b>	<b>3</b>
<b>MARCO TEORICO</b>	<b>4</b>
<b>1.1 DEFINICIÓN DEL VIRUS DEL OESE DEL NILO (VON)</b>	<b>4</b>
<b>1.2 SINÓNIMOS</b>	<b>4</b>
<b>1.3 ETIOLOGÍA</b>	<b>4</b>
1.3.1 Clasificación del Virus del Oeste del Nilo (VON)	5
1.3.2 Morfología del VON	5
<b>1.4 AGENTES TRANSMISORES DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON)</b>	<b>7</b>
<b>1.5 ARBOVIRUS</b>	<b>8</b>
<b>1.6 PATOGENIA</b>	<b>9</b>
<b>1.7 ANTECEDENTES</b>	<b>11</b>
<b>1.8 DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA</b>	<b>12</b>
<b>1.9 FACTORES QUE FACILITAN LA DISPERSIÓN DEL VIRUS</b>	<b>13</b>
<b>1.10 EPIDEMIOLOGIA</b>	<b>14</b>
1.10.1 Enzootias, Epizootias	14
1.10.2 Vigilancia epidemiológica en México	16



1.10.2.1.1 Definición de Caso de una Infección de VON en Equinos	18
<b>1.11 TRANSMISIÓN</b>	20
1.11.1 Transmisión en caballos	20
1.11.2 Transmisión en humanos	23
<b>1.12 CICLO BIOLÓGICO DEL VON</b>	<b>23</b>
<b>1.13 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS</b>	25
1.13.1 Signos en los Caballos	25
1.13.2 Signos del Virus del Nilo occidental en perros	25
1.13.3 Signos y Síntomas en humanos	25
1.13.3.1 Signos y/o síntomas de carácter encefálico	26
1.13.3.2 Signos y/o síntomas de carácter meníngeo	26
<b>1.14 CONSECUENCIAS DE LA ENFERMEDAD EN HUMANOS</b>	27
<b>1.15 LESIONES PATOLÓGICAS</b>	27
<b>1.16 IMPACTO ZOOSANITARIO</b>	28
<b>1.17 DIAGNÓSTICO</b>	28
1.17.1 Pruebas de Diagnóstico	29
1.17.2 Aislamiento viral en mosquitos	31
1.17.3 Aislamiento viral en ganado equino	31
1.17.4 Diagnóstico de casos en humanos	31
1.17.4.1 Diagnostico clínico recomendado en los infantes de madres infectadas con Virus del Oeste del Nilo (VON) durante embarazo.	32
1.17.5 Diagnostico diferencial en equinos	32
<b>1.18 MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA LA PRODUCCIÓN Y MANEJO DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO.</b>	33
<b>1.19 METODOS DE DETECCIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO</b>	35
1.19.1 Herramientas para la Vigilancia	35
1.19.2 Vigilancia aviar de morbilidad y mortalidad	35
<b>1.20 ANIMALES CENTINELA</b>	36
1.20.1 Vigilancia en Pollos Centinelas	36



1.20.2 Vigilancia en caballos	36
1.20.3 Vigilancia entomológica	37
1.20.3.1 Pruebas en los mosquitos	37
1.20.3.2 Metas de la vigilancia de mosquitos	38
1.20.3.3 Ventajas en la vigilancia de mosquitos	38
1.20.4 Vigilancia para los casos humanos	38
1.20.4.1 Metas de la vigilancia para los casos humanos	38
1.20.5 Pruebas serológicas en Aves Silvestres	39
<b>1.21 PREVENCIÓN</b>	<b>39</b>
1.21.1 Vacuna del Virus del Oeste del Nilo (VON)	40
1.21.1.1 Características de la vacuna	40
1.21.2 Vacunas humanas	41
1.21.3 Reportes de los casos sospechoso en caballos	41
1.21.3.1 Sacrificio humanitario en equinos	41
1.21.4 Medidas de protección para evitar las picaduras de mosquitos	42
1.21.4.1 Difusión de la Información	42
1.21.4.2 Practicar acciones permanentes de patio limpio	43
1.21.4.3 Medidas de protección para evitar el desarrollo de larvas.	43
1.21.4.4 Prevención para Niños y Jóvenes	44
1.21.4.5 Prevención en personas mayores de 50 años.	44
1.21.5 Utilización de repelentes	44
1.21.5.1 Insecticidas de uso doméstico	45
<b>1.22 TRATAMIENTO</b>	<b>45</b>
1.22.1 Tratamiento en equinos	45
1.22.2 Perspectivas terapéuticas humanas	46
<b>1.23 PRONÓSTICO</b>	<b>46</b>
<b>MARCO DE REFERENCIA</b>	<b>47</b>
<b>CANATLÁN</b>	<b>47</b>
<b>DURANGO</b>	<b>49</b>

<b>NUEVO IDEAL</b>	<b>50</b>
<b>MATERIALES Y METODOS</b>	<b>51</b>
<b>FASE DE CAMPO</b>	<b>51</b>
<b>FASE DE LABORATORIO</b>	<b>53</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>55</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>55</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>56</b>

## **RESUMEN**

La presente investigación se realizó en el estado de Durango en los municipios de Nuevo Ideal, Canatlán y Durango, durante la temporada; Diciembre-Junio del 2005.

El objetivo de este trabajo es observar la situación general del virus del oeste del Nilo (VON) en el estado de Durango, por medio de aislamiento viral, en ganado caballar, en los municipios de Canatlán, Nuevo Ideal y Durango, para lo cual se recolectaron muestras serológicas de equinos durante la temporada; Diciembre-Junio del 2005, se recolectaron la cantidad de 200 muestras de caballos no vacunados, Las cuales fueron enviadas al laboratorio de alta seguridad de la CPA en una hielera con refrigerante.

Todas las muestras examinadas resultaron negativas a la presencia del VON por medio de aislamiento viral. Lo que nos indica la necesidad de realizar monitoreos mas extensos en la especie equina, para la obtención de información epidemiológica del VON en nuevas ubicaciones geográficas que representen un riesgo para la salud publica y animal.

## INTRODUCCIÓN

Hace un cuarto de siglo, expertos en enfermedades infecciosas manifestaron que la lucha contra las infecciones había sido ganada, basados en los avances sanitarios, el incremento del consumo de agua potable y las mejores condiciones de vida existentes; unido ello a los programas de vacunación, y el desarrollo de los antimicrobianos. Pero si hoy se lleva a cabo un análisis de la situación, podrá comprobarse que el panorama es bien distinto. Después de 60 años de tratamiento con antimicrobianos, las enfermedades infecciosas son aún la causa más directa de las muertes que se producen en el mundo. De los 53 millones de fallecimientos anualmente se calcula que alrededor de 16 millones son debido a enfermedades infecciosas **(Morejón y col., 2003)**.

El descubrimiento de nuevas enfermedades infecciosas, de sus agentes etiológicos y de su fisiopatogenia es noticia frecuente en la prensa médica y agencias noticiosas, de igual forma otras enfermedades que tuvieron determinados niveles de control se muestran con incidencias cada vez más altas y se convierten en importantes problemas de salud para millones de personas en el mundo. Las enfermedades emergentes y reemergentes se han convertido en un punto de atención de clínicos, epidemiólogos, microbiólogos, sociólogos, administradores de salud y de políticos de muchos países; sin embargo, muchos de los factores condicionantes de esta nueva y compleja situación se miran de soslayo. La pobreza es un flagelo que azota a más de 4 000 millones de personas en nuestro planeta y se convierte en un factor primordial para el modo y estilo de vida que determinan la salud individual y colectiva **(Valdés, 2004)**.

Aunque el concepto de enfermedad emergente puede aplicarse a un grupo de patologías que recientemente afectan a la raza humana, el término ha sido prácticamente utilizado en el contexto de enfermedades infecciosas. Así, las “Enfermedades Infecciosas Emergentes” pueden ser definidas como infecciones que han aparecido en una población o que han existido pero que rápidamente han incrementado su incidencia o intervalo geográfico **(Castro y col., 1997)**.

Algunos ejemplos de este tipo de enfermedades son; Encefalitis Equina Venezolana (EEV), Encefalitis Equina del Este y Oeste, Encefalitis Japonesa, Virus del Oeste del Nilo (VON), que afectan tanto a los equinos como a los humanos **(Salazar, 2003)**.

La fiebre por el virus del Oeste del Nilo (VON), es una infección zoonótica transmitida por mosquitos vectores de varios géneros, a los vertebrados equinos, bovinos, caninos, aves y humanos (**Salim, 2003**).

Las primeras epidemias registradas de la Fiebre del Nilo Occidental, ocurrieron en Uganda 1937, Egipto 1950, Israel 1957, Francia 1960, África 1974, Rumania 1990, Rusia 1999, Nueva York 1999, resto de EUA 2000, México 2002 entrando por los estados de Coahuila, Nuevo León y Yucatán (**Salazar, 2003**).

En México en noviembre del 2002 se confirmó la presencia del Virus del Oeste del Nilo (VON), en dos estados de la frontera norte: Tamaulipas (un equino) y Coahuila (diecisiete equinos). Al cierre del 2002 se registraron 36 casos en humanos de encefalitis atribuible a VON, todos se descartaron; dos aves positivas por serología y 21 con serología positiva en equinos.

Hasta el 20 de agosto del 2003, se confirmó la infección por VON en 12 estados y 57 municipios. Durante este periodo se han registrado 623 casos en equinos por serología y un caso de enfermedad en el cual se logró aislamiento viral. En aves se han registrado 25 casos por serología, involucrando 23 especies, entre las que predominan aves residentes (**SAGARPA, 2004**).

Es por esto que en el presente trabajo se realizará el monitoreo del Virus del Oeste del Nilo en las poblaciones equinas de los municipios de Canatlán, Nuevo Ideal y Durango, pertenecientes al Estado de Durango, con la finalidad de obtener información epidemiológica que contribuya al estudio de esta enfermedad y al aporte de datos para los sistemas de vigilancia epidemiológica.



## **JUSTIFICACIÓN**

La razón por la que se realizará este proyecto es debido a la necesidad de información epidemiológica, referente a los equinos que se localizan en los municipios de Canatlán, Nuevo Ideal y Durango que pertenecen al Estado de Durango estableciendo de esta forma la información necesaria a cerca de la diseminación del Virus del Oeste del Nilo y protegiendo así el ganado equino en dichos Municipios.

## **OBJETIVO**

Demostrar por medio del Aislamiento Viral la presencia del Virus del Oeste del Nilo (VON) en equinos en el Estado de Durango, en los municipios de; Canatlán, Nuevo Ideal y Durango.

## **HIPÓTESIS**

Al menos en una muestra procesada se encontrará positividad hacia el Virus del Oeste del Nilo.

## **HIPÓTESIS NULA**

En ninguna muestra procesada se encontrará positividad hacia el Virus del Oeste del Nilo.

## MARCO TEORICO

### 1.1 DEFINICIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON)

El Virus del Oeste del Nilo: un patógeno global reemergente (Lyle y cols., 2001), neurotrópico (Salim, 2003), apareció por primera vez en el Continente Americano en la ciudad de Nueva York en 1999 (SAGARPA-SENASICA., 2004), es una enfermedad viral transmitida por la picadura de mosquitos infectados, que afecta a aves, equinos y humanos (SAGARPA, 2004) y forma un grupo de síndromes patológicos caracterizados por trastornos que pueden ser subclínicos, ligeros, similares a una fiebre, hasta cursar como meningoencefalitis o muerte, principalmente en algunas aves silvestres como los cuervos (SAGARPA-SENASICA, 2004).

La enfermedad causada por el virus es llamada encefalitis y puede ser grave en los ancianos, pero por lo general es leve en adultos saludables y en niños. Otros síntomas incluyen dolores de cabeza, salpullido, nódulos linfáticos inflamados, problemas gastrointestinales, y dolor en los ojos, músculos y espalda. La tasa de mortalidad en humanos va de 5 a 13%. Algunos síntomas de la enfermedad se han notado en animales domésticos (caballos) pero la mayoría de las infecciones solo han resultado en destemplanza (Rey y col., 2001).

### 1.2 SINÓNIMOS

Virus del Oeste del Nilo, Meningitis del Oeste del Nilo, Meningitis del Nilo Occidental, Poliomiелitis del Oeste del Nilo, Enfermedad Neuroinvasiva, Fiebre del Oeste del Nilo, Fiebre del Nilo Occidental., Virus del Nilo occidental, West Nile Virus, Virus West Nile, Encefalitis del Nilo Occidental (Vargas y col., 2002; SAGARPA, 2003; CDC, 2003).

### 1.3 ETIOLOGÍA

El agente causal del VON es un virus RNA de la familia *Flaviviridae*, género flavivirus. Este agente requiere de un vector biológico para su replicación, el cual puede ser tanto mosquito como garrapata. En los Estados Unidos, los mosquitos del género *Culex* spp. son los principales, por lo que el mecanismo de transmisión es directo, a través de la picadura del mosquito (vector biológico). Su ciclo en la naturaleza es generalmente entre aves silvestres y mosquitos que gustan de alimentarse de aves (ornitofílicos); sin embargo, cuando aumentan las poblaciones de aves aparecen otro tipo de mosquitos que se alimentan

indistintamente de aves y mamíferos, los cuales son los responsables de la transmisión hacia humanos y equinos; las aves son consideradas principalmente amplificadores, ya que en estos animales la viremia es persistente, lo que permite que se infecten los mosquitos; sin embargo su estatus de reservorio es aún desconocido. (SAGARPA-SENASICA, 2004).

### 1.3.1 Clasificación del Virus del Oeste del Nilo (VON)

El VON pertenece a un serocomplejo (virus con similitudes antigénicas) en el que se encuentran los virus de la Encefalitis de Saint Louis, virus de la Encefalitis Japonesa (Hunt y cols., 2002; Brinton, 2002), virus del Valle del Murray, virus Cacipacore, Koutango, Alfuy, Kunjin y Yaounde, que incluye unos 70 virus distintos. Por ello, la confusión inicial diagnóstica del brote de Nueva York como virus de la encefalitis de Saint Louis al realizar pruebas serológicas (García, 2003).

### 1.3.2 MORFOLOGÍA DEL VON

El Virus del Oeste del Nilo, es miembro de la familia Flaviviridae del género *flavivirus* (Lyle y col., 2002), taxonomicamente pertenece al complejo de la Encefalitis Japonesa, Encefalitis de Saint Louis, Encefalitis del Valle de Murray (Bunning y cols. 2002; Hubalek, 1999), entre otras; es miembro a su vez de un grupo extenso de virus llamados Arbovirus (Vargas y cols., 2004) que se transmiten por medio de vectores como los mosquitos e incluso las garrapatas.

Existen dos géneros de mosquitos que probablemente transmiten el VON estos son el *Culex* y el *AEDE*; sin embargo, se cree que existe un mayor número de especies de mosquitos que pueden servir de vector (Fort Dodge, 2004).

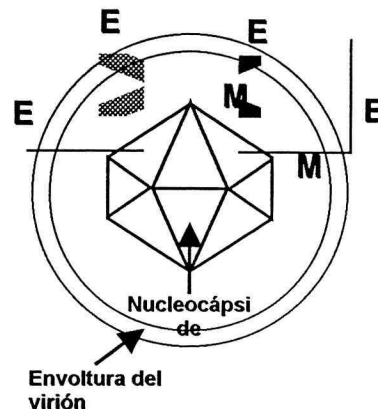
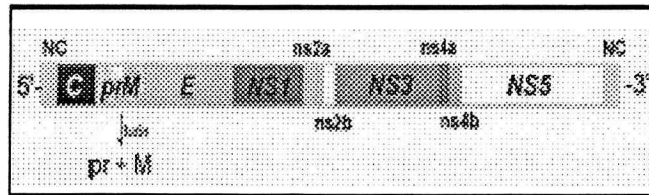


Figura 1.- Esquema del VON (Petersen et al, 2001)



Parte de Flavivirus es un tamaño común (40-60 nm), simetría (nucleocápside envuelto, icosaédrico), ácido nucleico (positivo-detecte, solo RNA trenzado aproximadamente 10.000-11.000 bases), y aspecto en el microscopio electrónico (SAGARPA, 2003; CDC, 2003) no es muy estable en condiciones ambientales y es rápidamente inactivado por los desinfectantes (Galvan y cols., 2004).

El flavivirus tiene una cápside icosaédrica de 30 a 35 nm y múltiples copias de cápside proteica de 12-kDa, la cápside incluye una cadena simple de RNA con sentido positivo de aproximadamente 12,000 nucleótidos.



Estructura genómica de los flavivirus, el genoma de los flavivirus es de 11000 a 12000 nucleótidos de largo, los extremos 3 y 5 no contienen la codificación de las regiones.

Los viriones son esféricos con un RNA monocatenario de signo positivo (RNA ss+) rodeado de una cápside y una membrana lipídica de doble capa en la que se encuentran inmersas las proteínas de envoltura y de membrana. El genoma del virus de unos 11 Kb, se caracteriza por tener una región no codificante en cada uno de sus extremos 5'y 3' (5'-UTR: Untranslated región, y 3'-UTR). El genoma tiene una única región de comienzo de lectura (Open Reading Frame), y codifica una poliproteína que se traslada y se procesa postraslacionalmente por proteasas víricas y celulares. Así se obtienen tres proteínas estructurales (cápside -C-, premembrana -prM- o membrana -M- y envoltura -E-) y siete proteínas no-estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5) (García, 2003).

Varios estudios recientes han caracterizado los perfiles de RNA de los virus del VON que incluyen varios aislados de la erupción en la Ciudad de Nueva York (NYC). Los resultados indican que todos los virus del VON aislados de NYC son casi idénticos. El virus del VON de NYC muestra afinidad muy íntima con un virus del VON aislado en 1998 de un ganso en Israel. Este hallazgo indica que hay sólo una sola cepa genética del VON en América del Norte ciertamente encaja con la posibilidad de que el virus fue introducido recientemente y

no ha residido en América del Norte el tiempo suficiente para divergir en cepas adicionales (Florida, 2000).

#### 1.4 AGENTES TRANSMISORES DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON)

Dos tipos de mosquitos se conocen por llevar la encefalitis de Saint Louis, el Virus del Oeste del Nilo, y la Encefalitis Equina Occidental:

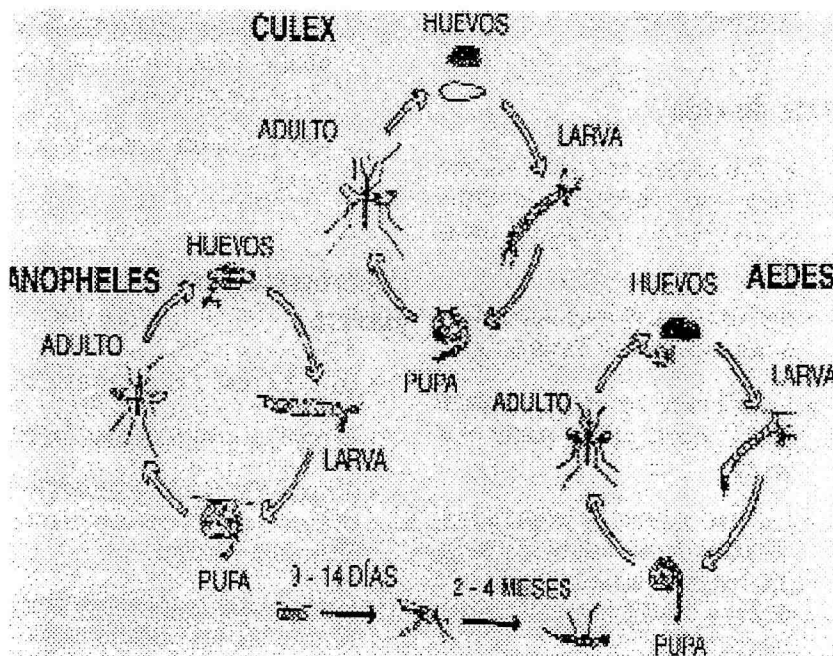
- *Culex quinquefasciatus* Say; Mosquito Meridional De la Casa
- *Culex tarsalis* Coquillett.

Estos llevan y pueden transferir estas enfermedades, por tanto se llaman vectores, es decir, son los medios por los cuales la enfermedad es transmitida.

Estos mosquitos son los vectores de la Encefalitis de Saint Louis, Encefalitis Equina del Oeste y Virus del Oeste del Nilo.

#### Ciclo de vida del Mosquito

El mosquito va por cuatro etapas separadas y distintas en el ciclo de vida: Huevo, Larva, Pupa y Adulto. Dependiendo en el ambiente, algunas especies pueden ir por su ciclo de vida entero que va de cuatro días hasta un mes o mas.



(Smith, 2003)

Los mosquitos femeninos adultos ponen sus huevos en racimos de 50 a 400 que flotan en la superficie del agua. Los huevos eclosionan dentro de un día o de dos en clima caluroso.



Generalmente 8 a 10 días se requieren para la terminación de las etapas larvales y pupal. Las hembras pasan el invierno en áreas abrigadas.

Los mosquitos femeninos se alimentan de la sangre en la noche de pájaros, de animales y de seres humanos. Los tiempos de alimentación máximos están entre la oscuridad y el amanecer, la mayor alimentación ocurre generalmente de dos horas después de la puesta del sol. Exhiben una preferencia por sangre del pájaro pero se alimentarán fácilmente de seres humanos y animales.

Los mosquitos emigran generalmente solo las distancias cortas de sus sitios de crianza. Los vuelos al buscar del anfitrión pueden ir desde dos hasta cinco millas de sus sitios de crianza.

### 1.5 ARBOVIRUS

Hay más de 500 arbovirus registrados y solamente algunos causan encefalitis en los seres humanos; están actualmente clasificados en dos familias y tres géneros: *togaviridae*, que incluye a algunos *Alfavirus* y *Flavivirus* y *Bunyaviridae*, que incluye a algunos *Bunyavirus* (Shope, 1980; Monath, 1988).

Al igual que con otros virus, la replicación de los alfavirus y flavivirus, estudiada en células de artrópodos y de huéspedes vertebrados, incluye todas las etapas como son la adsorción, penetración, desdoblamiento, transcripción del ácido nucleico, traducción, ensamble de viriones y salida de la célula huésped (Monath, 1979).

Los arbovirus tienen dos clases de hospedadores: vertebrados e invertebrados. Se conocen unos 400 arbovirus, de los cuales al menos 66 causan enfermedades en los animales domésticos o las personas. Catorce de estos arbovirus patógenos son transmitidos por garrapatas y 52 por mosquitos flebótomos (simúlidos) o *Culicoides spp.*

La transmisión por artrópodos puede ser mecánica en la que los mosquitos actúan como agujas volantes, o más frecuentemente *biológica*, implicando la replicación del virus en el artrópodo vector (Bachmann, 1987). Los artrópodos vectores se infectan por los virus al ingerir la sangre de un animal con viremia. La replicación del virus ingerido, inicialmente es en el intestino del insecto, su diseminación hacia las glándulas salivales dura varios días

(*periodo de incubación extrínseco*) (Florida, 2000), el intervalo varia según los virus y depende de la temperatura ambiente. Los viriones presentes en las secreciones salivares del vector se inyectan en los hospedadores animales siempre que son picados. La transmisión por artrópodos representa una vía para que un virus cruce las barreras entre especies, ya que un mismo artrópodo puede picar a aves, reptiles y mamíferos que rara vez o nunca entrarían en contacto en condiciones naturales.

En los primeros intentos para clasificar el gran número de virus que se transmiten mediante artrópodos se aplicaron técnicas serológicas. Posteriormente cuando los datos físico-químicos y morfológicos confirmaron las bases fundamentales de las relaciones serológicas, dos supergrupos principales, que habían sido denominados arbovirus del grupo A y del grupo B, se designaron, respectivamente, como los generos *Alphavirus* y *Flavivirus* dentro de la familia *Togaviridae* (Bachmann y cols. 1987).

Los alfavirus y flavivirus cambian genéticamente por mutación en sus moléculas de ARN durante el ensamblaje de estos virus en las células infectadas (Zarate y cols., 1999).

## 1.6 PATOGENIA

La patogénesis se inicia con la entrada del virus por la piel después de la picadura del mosquito (Saville y cols., 2003) o garrapata o por alguna otra vía de entrada como son leche materna, transfusiones, trasplantes.

Después de la entrada se replican lentamente en el sitio de entrada y se disemina por los linfáticos y vasos sanguíneos a otros tejidos, donde se multiplican en varios tipos de células, tales como las células hematopoyéticas o células multinucleares y en tejido conectivo. En un día la replicación viral produce suficientes viriones en estos sitios y el virus infeccioso se encuentra en la sangre (viremia). En este momento todavía no ocurre la enfermedad, o esta se limita a fiebre y síntomas generales, tales como dolor muscular y fatiga (Zarate y cols., 1999).

La encefalitis es una inflamación del cerebro y de la médula espinal normalmente causada por infección viral. Las enfermedades como la rabia, la poliomielitis, y el herpes encefalitis son todas causadas por infecciones de virus que afectan el cerebro y el cordón espinal y que se transmiten en una variedad de maneras.

Los virus que son llevados por artrópodos (llamados "arbovirus") son los virus que son mantenidos en naturaleza a través de la transmisión biológica a los anfitriones vertebrados susceptibles por los artrópodos hematófagos.

Las encefalitis arbovirales se mantienen en la naturaleza en ciclos de vida complejos que involucran un hospedero vertebrado no humano primario y un vector artrópodo primario y que normalmente no incluye a los humanos (**SAGARPA, 2003; CDC, 2003**).

Tras la introducción de un arbovirus en un animal mediante la picadura o mordedura de un artrópodo vector, se produce la replicación viral en las células próximas al punto de entrada y/o en los ganglios linfáticos regionales infectados por vía linfática a partir del punto de inoculación. La viremia primaria resultante permite que el virus invada tejidos y órganos extraneurales específicos, dando lugar a una viremia secundaria con un título elevado, lo que permite la infección de los artrópodos vectores. La infección de los tejidos y órganos extraneurales puede producir directamente un proceso clínico. El músculo cardíaco, el epitelio pancreático, el tejido adiposo marrón y los tejidos linfoides son, entre otros, órganos y tejidos extraneurales importantes en la patogenia de las enfermedades producidas por arbovirus.

La encefalitis producida por flavivirus se debe probablemente a la difusión hematógena y a la posterior entrada del virus por una de las diversas vías alternativas: (**SAGARPA, 2004**) difusión pasiva del virus a través del endotelio de los capilares del sistema nervioso central, replicación del virus en las células del endotelio vascular y liberación de la progenie en el parénquima del sistema nervioso central (**Fort Dodge, 2004**), invasión vírica del líquido cefalorraquídeo e infección del plexo coroideo y el epéndimo o transporte del virus en células inflamatorias o linfoides que pueden migrar al parénquima del sistema nervioso central.

Los estudios de inmunofluorescencia demuestran que en los animales en los que la viremia es pasajera y alcanza sólo un título bajo, los flavivirus podrían replicarse abundantemente en el epitelio olfatorio, a partir del cual invadirían el parénquima cerebral mediante difusión, por vía de los axones, a los bulbos olfatorios.

Una vez que el virus penetra en el parénquima del sistema nervioso central, no existen impedimentos anatómicos o fisiológicos para que se difunda por los estrechos pero libres espacios intercelulares de todo el sistema nervioso central. Las lesiones son el resultado de



la infección directa, la alteración y la disfunción de las neuronas (**Bachmann y cols., 1987**).

## 1.7 ANTECEDENTES

El Virus del Oeste del Nilo (VON) fue aislado en 1937 en una mujer febril en la provincia de West Nile en Uganda (actualmente provincia de Nile) (**Komar, 2000; García, 2003**) en África Central (**Rey y col., 2001**), y posteriormente de humanos, aves y mosquitos en Egipto a principios de los años 1950. Estaba muy distribuido en África, Oriente medio, y Asia Occidental. En las regiones endémicas la mayoría de las infecciones son asintomáticas o cursan con enfermedad leve o subclínica, siendo más grave en ancianos (**García, 2003**).

En 1999 la llamada de atención surge cuando un médico de Queens (Nueva York), comunica la coincidencia de dos casos de meningoencefalitis en el mismo hospital a las autoridades sanitarias del Estado de Nueva York. Un tercer caso comunicado desde otro hospital mientras se desarrollaba la investigación epidemiológica y la llamada de alerta a todos los hospitales de Nueva York, detectó varios casos más. Estos casos fueron atribuidos inicialmente a la infección por el virus de la encefalitis de Saint Louis. El conocimiento por parte de las autoridades veterinarias de esta noticia a través de los medios de comunicación, precisamente cuando se encontraban investigando la muerte de miles de córvidos (*Corvus brachyrhynchos*) y la muerte de algunas aves exóticas en el zoológico del Bronx (Nueva York) llevó a investigar si podía existir alguna relación entre la afectación humana y animal. Inicialmente se pensó en una epidemia por el virus de la Encefalitis de Saint Louis y se diagnosticó como tal, a pesar de que existían algunas diferencias importantes ya que con ésta infección no debía producirse la muerte de las aves portadoras. El estudio anatomopatológico de estas aves llevó al descubrimiento, de que se trataba del VON.

Desde entonces los acontecimientos y las investigaciones se han sucedido de una forma rápida, y lo que parecía un problema circunscrito inicialmente al Estado de Nueva York y de los estados vecinos de Nueva Jersey y Connecticut, ha rebasado todas las previsiones, habiéndose detectado casos humanos en Los Ángeles (California), quedando únicamente menos de 10 estados de la Unión, en los que no se han detectado al menos casos de en los que hayan sido afectados animales (**García, 2003**).

## 1.8 DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA

Se han producido epidemias en Israel (1950), Francia (1962), Argelia (1994), Marruecos, 1996), Rumanía (1996), Túnez (1997), República Checa (1997), Italia (1998), Israel (1997-2000), Rusia – Volgograd – (1999), Estados Unidos (1999-2002), y Francia (2000). De las epidemias europeas, la de Rumania de 1996 ocurrió en Bucarest y en áreas alrededor de Rumania con más de 800 casos de infección del sistema nervioso central con un 15% de mortalidad debida a los casos que cursaban con encefalitis, y aunque con menor intensidad continua en la actualidad **(Cernescu y cols., 2000; García, 2003)**.

El reconocimiento del Virus del Oeste del Nilo (VON) en el hemisferio occidental en el verano de 1999 marcó la primera introducción en la historia reciente de un flavivirus del Viejo Mundo al Nuevo Mundo **(Lyle y cols., 2001)**.

En septiembre de 1999 se notifica el primer brote por el VON en Nueva York. Entre 1999 y 2001 fueron confirmados 149 casos y 18 defunciones por meningoencefalitis. En 2002 se diagnosticaron 3,862 casos y 248 defunciones.

En Canadá desde agosto de 2002 se han confirmado 315 humanos con 17 defunciones, 356 equinos y 555 aves muertas **(SAGARPA, 2004)**.

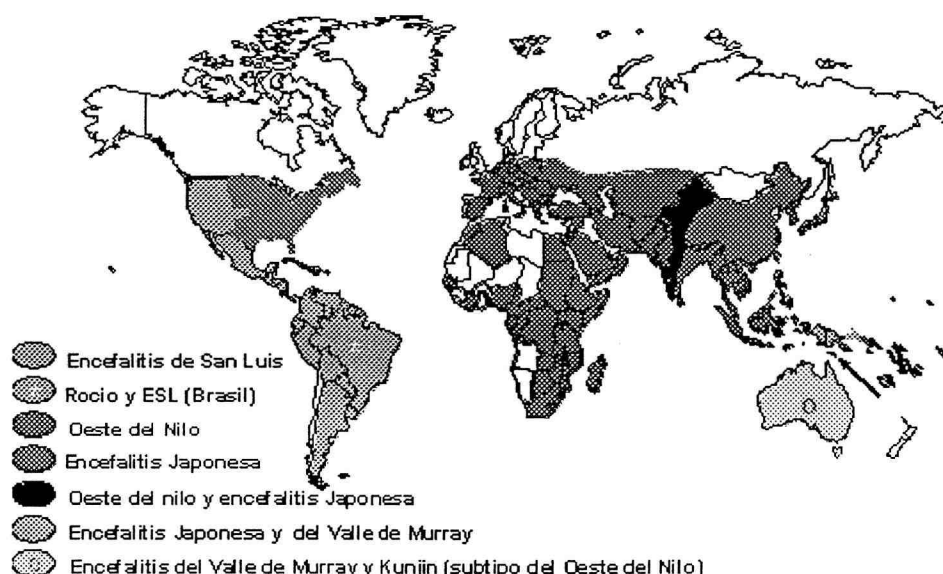
México en julio del 2003, declaró un estado de emergencia contra el VON. El VON fue identificado en nuestro país el 16 de mayo en el 2003 en Tabasco, donde se aisló el virus a partir de aves muertas. Se ha comprobado la presencia del virus en los estados de Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y Yucatán **(Vargas y cols. 2004)**.

Desde su descubrimiento en 1937, era un virus que despertaba poca preocupación en los países con el suficiente potencial investigador como para que se dedicasen los recursos y esfuerzos necesarios para profundizar en su conocimiento. Los brotes con afectación humana se habían producido en países con escasos recursos (África, Medio y Lejano Oriente, Cuenca mediterránea, Rumania y Rusia) **(García, 2003)**.

Aún cuando los signos de los equinos son semejantes a los de los humanos, el porcentaje de decesos en humanos por VON en el 2002 es del 11% mientras que en los equinos con signos clínicos es altamente superior, se estima del 40 al 50% **(SAGARPA, 2004)**. Aún cuando los equinos y las aves (silvestres y de ornato) son los más afectados, el VON puede llegar a afectar a otras especies como rumiantes, perros, primates, murciélagos, cerdos, conejos, ardillas **(Fort Dodge, 2004)**.



El virus del oeste del Nilo no parece causar enfermedad extensa en perros o gatos. Hay un solo informe publicado del VON aislado de un perro en África meridional (Botswana) en 1982. El virus del oeste del Nilo fue aislado de un solo gato muerto en 1999. Un estudio serológico realizado en caninos en áreas epidémicas pertenecientes a la Ciudad de Nueva York en 1999 indicó que los perros se infectan con frecuencia. No obstante, la enfermedad del VON en perros tiene todavía que ser documentada. (SAGARPA, 2003; CDC, 2003).



Distribución del serocomplejo japonés en el mundo

### 1.9 FACTORES QUE FACILITAN LA DISPERSIÓN DEL VIRUS

Factores que facilitan la dispersión del virus del Nilo Occidental incluyen el movimiento de los vectores infectados, y de aves domésticas, silvestres residentes, o silvestres migratorias infectadas con el virus. No es difícil imaginar las formas a través de las cuales este virus se puede mover rápidamente por todo el país. Muchos centros urbanos mantienen grandes poblaciones de los mosquitos que transmiten el virus. Estos incluyen a *Culex pipiens*, en el norte y su pariente cercano *Culex quinquefasciatus* en el sur. *Culex tarsalis*, en el oeste, y *Culex nigripalpus* en el extremo sur también pueden ser vectores, ya que transmiten el virus de Encefalitis de Saint Louis. Estos mosquitos ciertamente son los candidatos más posibles de transmitir el Virus del Nilo Occidental a aves y humanos. Si el Virus del Nilo Occidental

se introduce a otra nueva región de los Estados Unidos, con tiempo, se encontrará en poblaciones de aves domésticas (Rey y col., 2001).

## 1.10 EPIDEMIOLOGIA

### 1.10.1 Enzootias, epizootias

No se sabe a ciencia cierta como llegó el Virus del Oeste del Nilo a Norte América, pero se presumen varias posibilidades, como viajeros internacionales infectados, importación de aves o mosquitos infectados, o migración de estas.

El ciclo de transmisión *enzoótica* puede darse a baja intensidad entre ciertos hospederos vertebrados y especies vectoras, localizadas en hábitats específicos en ambientes rurales y semiurbanos. Si algunos factores externos ocurren simultáneamente (baja inmunidad en hospederos, abundancia de hospederos y especies vectoras, condiciones climatológicas favorables), el alcance y la intensidad del ciclo de transmisión se acentúan, produciendo una *epizootia*. Si la epizootia se da al inicio de la temporada de transmisión y si el foco se extiende a centros urbanos con vectores y hospederos adecuados, el riesgo de contagio humano (brote o epidemia) aumenta.

Las epidemias se desarrollan en regiones tropicales, donde las poblaciones de vectores y de huéspedes amplificadores susceptibles son grandes y están en contacto muy cercano. Cuando un arbovirus de la encefalitis invade estas regiones tropicales, puede formar un foco enzootico cercano o en proximidad a una selva o a un pantano, en donde el virus puede comenzar un ciclo entre vertebrados y mosquitos vectoras, si el agua de lluvia o la irrigación artificial ha formado criaderos acuáticos para el desarrollo de mosquitos (Zarate y cols., 1999).

La prevención y control de arbovirosis depende de la identificación y monitoreo de las especies que funcionan como hospederos y vectores del virus y el análisis de una serie de factores que pueden desencadenar epizootias y epidemias. Las especies vectoras y hospederos involucrados en el ciclo de transmisión *enzoótica* pueden ser los mismos involucrados en una epidemia (CDC, 1993).

El virus se está convirtiendo en una de las amenazas para la salud de mayor crecimiento en los caballos a lo largo de toda la nación (Galván y col., 2004).

La infección por VON tiene un comportamiento epidémico estacional, presentándose la mayoría de casos en el verano y otoño. La carga viral en muestreos clínicos sugiere que el



virus se multiplica en mayor cantidad en pacientes con leucopenia o inmunosupresión **(Vargas y cols., 2004)**.

En las Américas, la primera epidemia registrada de la encefalitis vírica del Nilo Occidental ocurrió en el área metropolitana de Nueva York al final del verano de 1999. Se notificaron un total de 62 casos de enfermedad neurológica y siete defunciones. Además de los seres humanos, ocurrieron epizootias concurrentes en aves y caballos, afectando de manera especial al cuervo americano. Durante esta epidemia / epizootia, el virus se detectó en cuatro estados: Connecticut, Maryland, Nueva Jersey y Nueva York. En el 2000, se presentaron 18 casos y una muerte registrados y se registró una actividad epizoótica en las aves y/o los mosquitos en 12 estados (Connecticut, Delaware, Maryland, Massachussets, Nuevo Hampshire, Nueva Jersey, Nueva York, Carolina del Norte, Pensilvania, Rhode Island, Vermont, Virginia) y el Distrito de Columbia **(OPS, 2000)**.

El VON fue introducido a los Estados Unidos de América en 1999; esta cepa muestra una homología casi completa con un aislamiento en 1998 de una cigüeña en Israel. El virus tiene una gama poco usual de hospederos que incluye 43 especies de mosquitos, 170 especies de aves y al menos otras 18 especies, incluyendo perros, gatos, caballos, ardillas y caimanes.

La epidemia estadounidense se ha movido secuencialmente hacia el oeste pero hasta ahora ha respetado la costa occidental. El número total de casos neurológicos fue de 4156 en 2002, y está en unos 3301 para el 2003. El virus de la encefalitis de Saint Louis, un flavivirus similar ocasionó epidemias periódicas en los Estados Unidos de América, con un máximo de unos 3000 casos en 1975. Desde entonces, no ha ocasionado grandes epidemias en los EUA, debido posiblemente a la inmunidad.

El virus del Oeste del Nilo ha supuesto recientemente un cambio de actitud respecto a su repercusión. El verano de 1999 supuso una nueva preocupación para Estados Unidos y desde entonces se han multiplicado los esfuerzos para conocer en profundidad su epidemiología, los métodos de diagnósticos y el planteamiento preventivo y terapéutico **(García, 2003)**.

El VON puede ser dividido genéticamente en dos linajes **(Lyle y cols., 2001)**: La línea 2 que representa al aislamiento original encontrado en África y que no se ha asociado con encefalitis humana **(Lyle y cols. 2002)**, y la línea 1 que está implicada en epidemias en

Israel, Rusia, India, Australia, Europa y los Estados Unidos de América. La línea 1 es la responsable por complicaciones del sistema nervioso central: y la mayoría de las muertes humanas.

La infección se ha detectado fundamentalmente en aves y en caballos, aunque también ha afectado a personas y algunos otros animales domésticos o salvajes. En las personas, aunque suele dar sintomatología leve en el 20% de los infectados, en 1 de cada 150 ó 200 personas provocan un cuadro grave tras propagarse el virus al sistema nervioso provocando una encefalitis con riesgo de fallecimiento. La infección por el virus se ha relacionado además con cuadros de parálisis similar a la producida por el virus de la poliomielitis. (Lyle y cols., 2001)

### 1.10.2 Vigilancia epidemiológica en México

En el 2001 se inician actividades de vigilancia epidemiológica.

En agosto del 2002 Coahuila notifica un caso en humanos importado de Texas. A finales de 2002 se confirman 21 equinos, uno en Tamaulipas, 17 Coahuila y tres en Yucatán.

En 2003 se han confirmado 21 equinos y tres aves en Nuevo León, dos aves en Yucatán y dos aves en Tamaulipas.

En el 2002, se anunciaron informes positivos relacionados al Virus de Oeste del Nilo, lo cual incitó a un aumento en la educación pública y en las recomendaciones equinas de vacunación. Aunque mucho se ha informado sobre el impacto económico que el VON tiene en la salud humana y en los servicios hospitalarios, falta documentación sobre los impactos que estos sucesos tienen en la población equina (Bachmann y cols., 1987).

La vigilancia epidemiológica es el estudio permanente y dinámico del estado de salud en la población y tiene como propósito presentar alternativas para la toma de decisiones. Desde el punto de vista operativo incluye la recopilación, procesamiento y análisis de los daños y riesgos en salud.

La vigilancia de VON ofrece la oportunidad de utilizar el enfoque de riesgo en epidemiología desde el contexto de la historia natural de la enfermedad, ya que su frecuencia, distribución y características están condicionadas por la participación de factores de riesgo específicos en la comunidad. Con el propósito de sistematizar los



componentes involucrados en la transmisión del VON y facilitar su estudio, se pueden clasificar como clínicos, entomológicos, virológicos y de factores de riesgo (**Méndez y cols., 2003**).

La Comisión México-Estados Unidos para la Prevención de Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA), cuenta con el programa de vigilancia epidemiológica activa de neuropatías en equinos, cuyo objetivo es determinar el agente causal involucrado en la presentación de casos en equinos, para determinar las medidas preventivas posteriores, asimismo, a raíz de la epidemia en los Estados Unidos se inició la vigilancia en aves silvestres muertas (**SAGARPA-SENESICA., 2004**).

La vigilancia se realiza en campo mediante la búsqueda de casos clínicos de equinos que presentan la sinología característica de la enfermedad. Sin embargo, es necesario la recolección de muestras de suero o adicionalmente, en el caso de que el equino muera o sea sacrificado, la extracción del encéfalo, para descartar que se trate de alguna otra encefalitis o rabia; el sacrificio del animal deberá realizarse conforme lo establece la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995.

Por otro lado, el VON puede afectar a varias especies de pájaros, incluyendo los cuervos, azulejos (chara azul), zanates y pinzón mexicano. Cuando estas aves se infectan tienen más probabilidad de enfermar y morir que otras especies. Por lo que la muerte de aves de estas especies, en particular los cuervos, se considera como una señal de actividad del VON en un área y es importante coleccionar muestras de aves muertas o enfermas (**SAGARPA-SENESICA., 2004**).

Hasta el 10 de diciembre de 2003, se realizaron 591 pruebas de laboratorio a personas de 25 estados. Se ha clasificado como positivas a seis personas, cuatro en el estado de Chihuahua, una en el estado de Sonora y otra en el estado de Nuevo León. Tres de los positivos confirmados correspondieron a meningoencefalitis por VON (forma grave) y otros tres a enfermedad febril por VON (forma leve). Se ha detectado actividad viral en 22 de los 29 estados que tomaron muestras en caballos, con un total de 2.475 pruebas con resultados positivos y dos casos de caballos muertos positivos, estos dos últimos en los estado de Nuevo León y Tamaulipas. En aves se detectó circulación viral en nueve de los 10 estados que han realizado pruebas para la detección de VON, con un total de 117 resultados

positivos de 17.963 pruebas realizadas y cuatro aves muertas positivas, encontradas en Sonora, Tamaulipas, Tabasco y Nuevo León.

Estudios filogenéticos indican que la cepa aislada en los primeros estudios del virus en México está relacionada con las cepas de la región central de los Estados Unidos, pero el grado relativamente alto de divergencia en la secuencia sugiere que el virus evolucionó independientemente por algún tiempo y no simplemente entró en México desde los EUA (SAGARPA, 2003).

Para la vigilancia epidemiológica de VON se han elaborado definiciones operacionales de caso, a efecto de unificar los criterios para su detección, notificación y clasificación. Las definiciones se caracterizan por tener elevada sensibilidad, es decir que permiten detectar la mayoría de los casos a través de los signos y síntomas más frecuentes de la enfermedad.

La especificidad del diagnóstico está dada por los estudios de laboratorio, por lo que es fundamental contar con los resultados de laboratorio.

#### **1.10.2.1 Definición de Caso de una Infección de VON en Equinos**

##### **Caso confirmado**

- Signos compatibles como ataxia (incluyendo dificultad para caminar, tropiezos, tambaleo, andar titubeante o incoordinación) o por lo menos dos de los siguientes signos, caminar en círculos, debilidad en los miembros posteriores, incapacidad para estar de pie, parálisis múltiple en los miembros, fasciculación del músculo, dificultades propioceptivas, ceguera, caída o parálisis del labio, rechinado de dientes o muerte aguda, más uno de los siguientes diagnósticos:
  1. Aislamiento de VON en tejidos, preferentemente para el diagnóstico en equinos se requiere el cerebro o la médula espinal; aunque se puede incluir sangre o Líquido Cefalorraquídeo (LCR), los únicos informes conocidos de aislamiento del virus o de Reacción Cadena Polimerasa (PCR) positivo a partir de sangre caballar o LCR se han realizado de animales experimentalmente infectados.
  2. Cuadruplicación de los títulos de anticuerpos o mayor cambio en la prueba de reducción de la neutralización en placa (PRNT) para VON en tiempo. El

- primer suero debe extraerse lo más pronto posible después de los primeros signos clínicos y el segundo por lo menos siete días después del primero.
3. Resultados positivos a ambas pruebas: detección de anticuerpos para VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR y un elevado título (1:10 o mayor) de anticuerpos de VON por PRNT en suero.
  4. Resultados positivos a ambas pruebas: detección de anticuerpos para VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR y a la prueba positiva a la reacción de cadena de polimerasa (PCR) para secuencia genómica en los tejidos antes mencionados.
  5. Resultados positivos a ambas pruebas: detección de anticuerpos para VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR y a la prueba positiva a inmunohistoquímica (IHC) para el antígeno de VON en tejido.
  6. Resultados positivos a ambas pruebas: de IHC para el antígeno de VON en tejido y prueba positiva para PCR por secuencia genómica en tejidos.

### **Caso Probable**

- Presencia de los signos antes mencionados más uno de los siguientes diagnósticos:
1. Detección de anticuerpos contra VON por ELISA de captura para IgM en suero o LCR, pero sin títulos elevados a VON (menores a 1:10 o negativos) por PRNT en suero, no ser positivo a PCR por secuencia genómica en los tejidos antes mencionados o no ser positivo a la prueba de inmunohistoquímica (IHC) para el antígeno de VON en tejido. En caso de suero colectado 22 días o más después de los signos clínicos de la enfermedad y sin títulos elevados por PRNT será reclasificado como un caso negativo,
  2. Positivo a IHC para el antígeno de VON en tejido.
  3. Positivo a PCR por secuencia genómica en tejidos.
  4. Positivo a la prueba de inmunohistoquímica (IHC) para el antígeno de VON en tejido.



Un caballo clasificado como caso probable debe, si es posible, ser sometido a un diagnóstico extenso que pueda confirmar o descartar VON como la causa de los signos clínicos.

La detección de anticuerpos de IgG en los monitoreos en equinos indicará una previa infección del VON en las poblaciones susceptibles (Méndez y cols., 2003).

El registro y la notificación de los casos probables o confirmados de VON, se realiza de acuerdo a los procedimientos establecidos en la Nom-017-SSA-2-1994, para la Vigilancia Epidemiológica.

La confirmación de todo caso o defunción de VON deberá ser revisada y analizada en el seno de los Comités de Vigilancia Epidemiológica y los subcomités clínicos en sus diferentes niveles: jurisdiccional, estatal y nacional, a efecto de definir las estrategias de prevención y control (Méndez y cols., 2003).

## **1.11 TRANSMISIÓN**

### **1.11.1 Transmisión en caballos**

Los caballos y aves son los animales que padecen la infección más grave por el VON. Cientos de caballos han contraído la encefalitis producida por el VON y se calcula que uno de cada tres animales fallece como consecuencia de la infección. Pueden infectarse, además de aves y caballos, otros animales, manifestando una sintomatología neurológica (gatos, perros, conejos, racoons, ardillas, murciélagos, etc.), aunque parece que los perros y gatos son muy resistentes a la enfermedad (se conoce un caso de muerte en un gato como consecuencia de la enfermedad en los Estados Unidos). El riesgo de que los animales adquieran la infección depende de la exposición a los mosquitos.

Su reservorio principal son las aves, en donde la temperatura afecta el tiempo requerido para su manifestación. Si un ave está infectada durante un período de temperatura baja, por ejemplo 20° C, la enfermedad tarda hasta tres semanas para manifestarse y afectar al ave. Si la temperatura alcanza 40° C, necesita solamente una semana. Durante ese periodo, el ave puede moverse, incluso en grandes distancias. Una vez infectada, si no muere, el ave desarrolla inmunidad (Roy, 2002). De esta forma se ha extendido en tres años por muchos estados dentro de los Estados Unidos y se piensa que pasará a Centro y Sudamérica. (García, 2003).



La mayoría de los *Flaviviridae* son transmitidos por artrópodos, mosquitos o garrapatas, por lo que son Arbovirus (Arthropod Borne Virus). Entre los más importantes *Flaviviridae* transmitidos por artrópodos se encuentran:

- ✓ WNV (West Nile Encephalitis virus) - Encefalitis del Nilo Occidental (África, Asia, Europa, y recientemente Norteamérica).
- ✓ Yellow fever virus (YF) – Fiebre amarilla.
- ✓ Dengue viruses – 4 serotipos – (DEN-1, -2, -3, -4) – Dengue.
- ✓ Japanese Encephalitis virus (JE) – Encefalitis Japonesa (Asia, Oceanía y Australia).
- ✓ Murray Valley Encephalitis virus (MVE) – Encefalitis del Valle del Murria (Australia).
- ✓ Tick-borne encephalitis virus (TBE) – Encefalitis transmitida por garrapatas.
- ✓ St. Louis Encephalitis virus (SLE) – Encefalitis de San Luis (Norteamérica y Sudamérica).
- ✓ Otros: Cacipacore (Sudamérica); Koutango (África); Alfuy (Australia); Kunjin (Australia) (**García, 2003**).

El principal mecanismo es la transmisión por medio de los mosquitos, estos adquieren el virus cuando se alimentan en animales (hospederos de almacenaje) que están infectados con el virus (se identificaron 27 especies de mosquitos infectados hasta el 2001) (**Díaz, 2002**). Los hospederos de almacenaje que están involucrados con la transmisión del virus del Nilo Occidental son los pájaros silvestres (**Fort Dodge 2004**), que además de actuar como reservorio, son los que propagan la infección a distancia con sus migraciones (**García, 2003; Malkinson y cols., 2002**) y en los cuales la infección puede ser mortal. El ave se infecta con el virus y su forma de transmisión es a través de un vector (mosquito), el cual se alimenta de la sangre del ave adquiriendo así el virus (**Fort Dodge, 2004**). Después de 10 a 14 días el mosquito puede transmitir el virus a otra ave (**SAGARPA, 2004**) o a un ser humano introduciendo así el virus en el organismo de estos, tanto los humanos como los equinos son huéspedes finales (**Fort Dodge, 2004**).

Las aves son los animales que se han considerado implicadas como reservorio para la transmisión a través de los mosquitos, ello es debido a que padecen la infección pero la gran mayoría de ellas no se afectan habitualmente por ella (**García, 2003**). Los cuervos en

particular son propensos a ser infectados con el virus del Nilo Occidental y sufren alta mortalidad. Las aves producen gran número de partículas virales que circulan en su sangre, y cuando ciertas especies de mosquito se alimentan en animales infectados, el virus se multiplica en estos mosquitos **(Rey y cols., 2001)**. Posteriormente al picar animales no infectados como en el caballo aves o humanos los mosquitos dejan salir saliva que contiene el virus. La saliva entra en la cuenca sanguínea llevando consigo el virus **(Rey y col., 2001)**. El intervalo de tiempo entre la picadura del mosquito y el comienzo de los signos es de 5 a 15 días, Seguido de la picadura del mosquito infectado, el virus se multiplica en la sangre del caballo, cruza la barrera hematoencefálica e infecta el cerebro. El virus entonces interfiere con el sistema nervioso central, y puede causar inflamación del cerebro **(Rey y cols., 2001)**.

Cuando un caballo es infectado, el número de partículas virales es relativamente bajo **(Salim, 2003)**, en comparación con los hospederos de almacenaje naturales. Debido a que el número de partículas es tan bajo, mosquitos libres de la infección no reciben suficiente virus al picar a caballos o a humanos para infectarse ellos. Por lo tanto, los humanos y los caballos no transmiten la enfermedad y son llamados "hospederos sin salida" **(Rey y col., 2004)**.

Ahora se han descubierto nuevas vías de transmisión en los Estados Unidos de América durante los dos últimos años. Se ha implicado el implante de órganos en cuatro casos, la transfusión sanguínea en veintitrés casos (en 2002), la transmisión vía trasplacentaria en un caso (con severas secuelas en el niño), amamantamiento en un caso, y transmisión percutánea con una herida por aguja hipodérmica en un caso. Los casos relacionados con la transfusión sanguínea condujeron a pruebas de amplificación del ácido nucleico de VON en los bancos de sangre. Hasta hoy, se han encontrado más de 500 resultados positivos en unas dos millones de donaciones. La revisión de 16 casos implicados como fuentes en VON asociada a transfusiones en 2002 mostró una viremia de título bajo. Cinco nunca tuvieron síntomas y nueve tuvieron una enfermedad febril autolimitante.

Estas situaciones eran impensables previamente debido a que se admite que el virus permanece poco tiempo en la sangre **(García, 2003)**.

### **1.11.2 Transmisión en humanos**

La edad es un factor importante en VON. Para VON, la edad promedio es de 40 a 49 años, para meningitis es de 40 años y para encefalitis es 50 a 70 años. La tasa de letalidad cuando hay secuelas neurológicas está relacionada con la edad, cerca de 5% para las edades comprendidas entre los 40 y 50 años y a cerca de 25% para personas mayores de 80 años. Para VON el pico de edad para la incidencia es de 40 a 49 años. No se ha explicado la relativa resistencia de los niños.

Los casos fatales se registran en mayores de 55 años (**SAGARPA, 2004**).

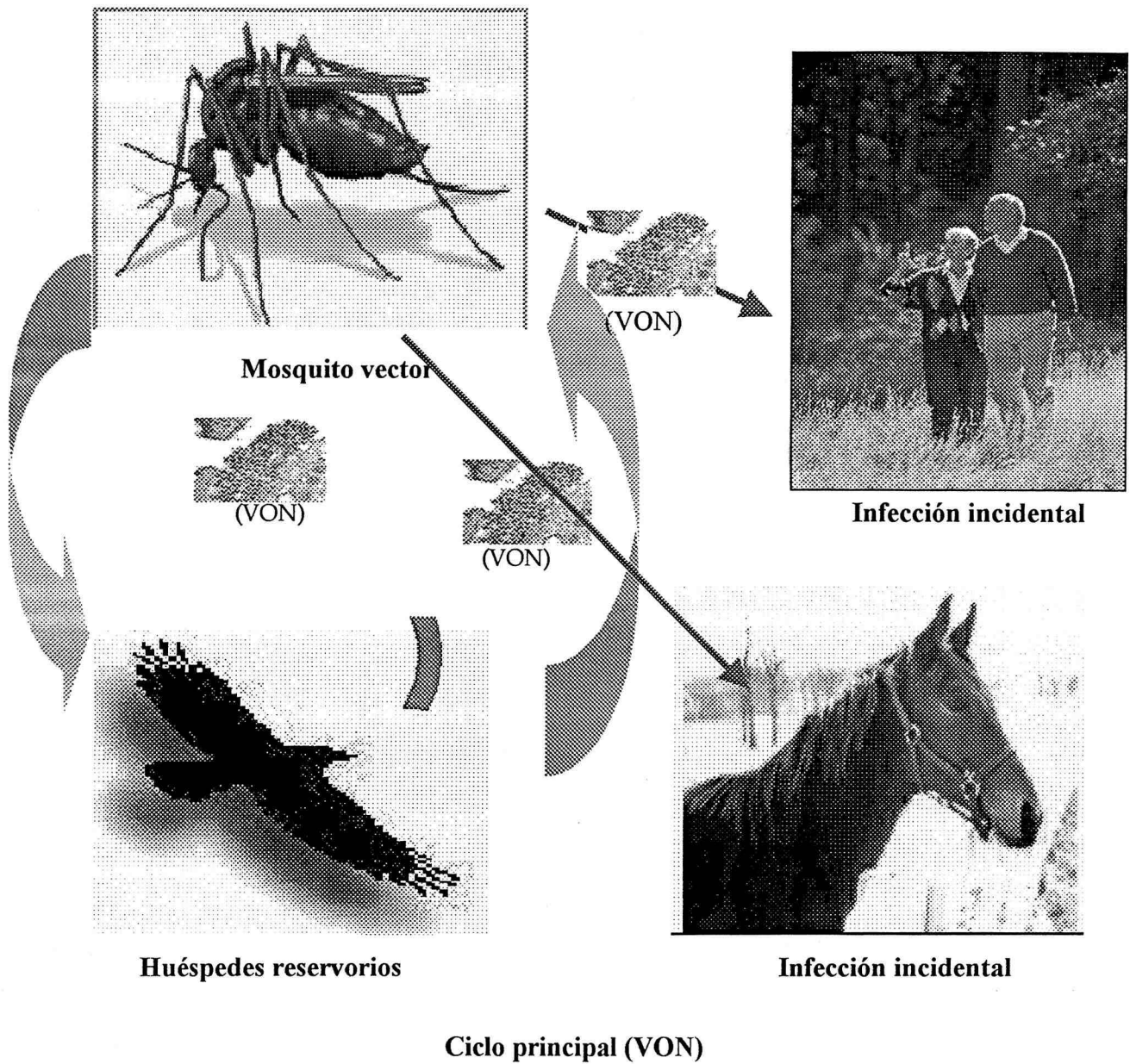
### **1.12 CICLO BIOLÓGICO DEL VON**

El ciclo principal involucra a las aves como reservorios y a los mosquitos como vectores (**Komar, 2000**). Se han podido demostrar infecciones de VON en una amplia variedad de aves. Éstas incluyen 25 especies de 9 órdenes infectadas bajo condiciones de laboratorio y muchas otras más en condiciones naturales, incluyendo diversas especies en Europa.

También se infectaron y murieron una gran variedad de aves provenientes de todas partes del mundo en el zoológico de Bronx durante las fases iniciales de llegada del VON a Nueva York así como docenas a cientos de especies en el Hemisferio Occidental

Los efectos de la infección por VON en esas especies varían desde benignos a casi universalmente fatales. En general, los Passeriformes representan los reservorios más competentes para la transmisión del VON, aunque algunos otros órdenes sin duda también contribuyen. Las aves que sobreviven a una infección del VON con frecuencia mantienen infecciones activas ‘secuestradas’ en órganos particulares mucho después de que cualquier síntoma ha desaparecido (**Epidemiología, 2003**).





Hasta el momento se piensa que el virus se introdujo al continente americano a través de aves migratorias, que mantuvieron ciclos de transmisión enzooticos en hábitats silvestres; favoreciendo la transmisión en aves residentes y domésticas, convirtiéndose en huéspedes amplificadores de gran alcance.

La baja viremia desarrollada en humanos, equinos y pequeños mamíferos obliga a considerar los hospederos terminales; sin embargo la tasa de letalidad en humanos fue de 14% y en equinos de 50% al cierre del 2002.



Durante los dos primeros años de la epidemia en Estados Unidos de América sólo se comprobó la transmisión horizontal. Durante el 2002 se comprobó la transmisión vertical a través de trasplantes, transfusión sanguínea y accidentes de laboratorio (SAGARPA, 2004).

### **1.13 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS**

#### **1.13.1 Signos en los Caballos**

En los caballos, el virus afecta principalmente al cerebro y nervios. Por ello, los signos incluyen cambios de conducta, hiper respuesta a ruidos y contacto, contracturas musculares, caídas o movimientos circulares. La enfermedad puede progresar y manifestarse como incapacidad para mantenerse de pie, convulsiones y muerte (García, 2003).

Los equinos que se enferman muestran signos como pérdida del apetito (anorexia), dificultad al caminar, (tropezan, se hincan) inclinación de cabeza, temblor y debilidad de músculos, fiebre, depresión, parálisis. El 30-40% de los caballos que se enferman mueren (Jean, 2003).

También se incluyen los signos; letargia, ataxia, parálisis parcial. Otros signos que pueden indicar infección con el virus del Nilo Occidental en los caballos incluyen deterioro de visión, disfagia (Rey y col., 2001).

Aunque el virus no afecta la mayoría de humanos y caballos, se debe considerar como un riesgo serio. Normalmente el virus causa síntomas leves, pero puede causar inflamación del cerebro y medula espinal. El virus puede afectar todos los equidos incluyendo caballos, mulas, y burros (Jean, 2003).

#### **1.13.2 Signos del Virus del Nilo occidental en perros**

Los signos neurológicos son similares a los vistos en caballos, tales como incoordinación, depresión, anorexia, dificultad para caminar, temblores, postura anormal, circular sobre sí mismos, y convulsiones (Rey y col., 2001).

#### **1.13.3 Signos y síntomas en humanos**

Aunque las infecciones humanas en áreas endémicas de VON son comunes, la mayoría de éstas son generalmente leves o subclínicas, mientras que la enfermedad severa se relaciona generalmente con personas de la tercera edad. La presencia del virus en estos hospederos puede causar encefalitis, o inflamación del cerebro.

El período de incubación es de dos a 14 días con "la fiebre del Oeste del Nilo" (FON). En el humano Cerca de 80% no presentan síntomas y 20% tienen una enfermedad febril. que aparece de repente y dura de cinco a seis días (Rey y col., 2001) malestar general y ocasionalmente con síntomas graves como encefalitis o meningitis (inflamación de las meninges) (SAGARPA, 2004). Está relacionado estrechamente con el virus de la Encefalitis de Saint. Louis (SLE) (Rey y col., 2001).

Otros síntomas incluyen dolores de cabeza, salpullido, nódulos linfáticos inflamados, problemas gastrointestinales, y dolor en ; ojos, músculos y espaldas.

En casos graves, los síntomas pueden causar la muerte. La tasa de mortalidad en humanos va de 5 a 13% (Rey y col., 2001).

Los hallazgos más comunes con la encefalitis o meningoencefalitis incluyen anormalidades oculomotoras, desórdenes del movimiento y mioclono. En la mayoría de los pacientes se ven características del mal de Parkinson. Los exámenes de líquido cefalorraquídeo muestran una pleocitosis mononuclear y proteína elevada. El síndrome de parálisis aguda consiste en una parálisis asimétrica sin dolor ni pérdida sensorial. Es de rápida evolución, frecuentemente está asociada con mal funcionamiento de los nervios craneales y generalmente ocurre en pacientes relativamente jóvenes. Estudios de la conducción nerviosa muestran una neuropatía desmielinizante axonal.

#### **1.13.3.1 Signos y/o síntomas de carácter encefálico**

Apatía, irritabilidad, agresividad, habla farfullada, diplopía, oftalmoplejia, parálisis facial central, disartria, ausencia de reflejo nauseoso, convulsiones, temblores, ataxia, hipotonía, hiperreflexia, desorientación, confusión, somnolencia, sopor, estupor, coma.

#### **1.13.3.2 Signos y/o síntomas de carácter meníngeo**

Rigidez de nuca, dolor lumbar, fotofobia, signo de kernig, signo de brudzinski. (SAGARPA, 2004)

Los síntomas ligeros pueden durar algunos días mientras que los síntomas más severos pueden durar varias semanas. Los efectos neurológicos pueden ser permanentes, fatales. Menos del uno por ciento de los casos por picadura de mosquito infectado llega a enfermarse seriamente (CDC, 2003).

### **1.14 CONSECUENCIAS DE LA ENFERMEDAD EN HUMANOS**

La tasa de letalidad general para los casos neurológicos es de 10%, pero la epidemia actual en los Estados Unidos de América es de 1.6%. Los factores de riesgo de muerte son edad avanzada e inmunosupresión. Las consecuencias de la encefalitis son variables, pero 25% se recuperan completamente con alta del paciente y 35% a 40% tienen secuelas neurológicas de larga duración incluyendo temblores o mal de Parkinson (**SAGARPA, 2004**).

### **1.15 LESIONES PATOLÓGICAS**

En Estados Unidos se presentaron caballos afectados y presentaban encéfalomiелitis moderada no supurativa, principalmente en la médula espinal y el tallo cerebral bajo. La lesión afecta tanto la materia gris como la blanca, la lesión más severa se presentó en las regiones torácicas y lumbares de la médula espinal, también se observaron hemorragias en médula espinal de moderadas a severas. Las lesiones en tallo cerebral envuelven e incluyen lesiones en el núcleo basal, materia gris, tálamo, cerebro medio, tallo cerebral bajo, y lateroventral en cuernos de la medula espinal. La lesión más severa incluye neurofagia supurativa con pequeñas áreas de necrosis y restos celulares (**Steele y cols., 2000; Bunning y cols., 2002; Saville y cols., 2003**).

En humanos se presenta necrosis neural en la materia gris, con infiltración de microglia y leucocitos polimorfonucleares, degeneración neural, y neurofagia. Las lesiones histopatológicas fueron mas prominentes en el tallo cerebral y cordón espinal, a lo cual se le atribuyen los dolores musculares en pacientes que cursan con la enfermedad (**Shieh y cols., 2000**).



## 1.16 IMPACTO ZOOSANITARIO

El impacto a nivel zoonosario puede tener consecuencias de importancia no sólo para la industria equina sino también a nivel ambiental ya que las aves silvestres y las aves de ornato pueden infectarse con el VON, es un gran problema ya que se cree que los animales mamíferos y aves que se alimentan de carroña pueden contraer la enfermedad si consumen carne de animales infectados. Cabe mencionar que se ha reportado la aplicación de la vacuna del Virus del Oeste del Nilo a aves de ornato (flamingos, pingüinos) obteniendo resultados alentadores.

Se estima que en la República Mexicana existen alrededor de 5, 180,721 cabezas de ganado equino, si consideramos que la mortalidad presente en Estados Unidos en caballos no vacunados por VON es del 45%, estamos hablando de que tendríamos una pérdida considerable de equinos en nuestro país (alrededor de 2, 331,324 cabezas de ganado equino. Esta pérdida de cabezas de ganado equinos traería consigo consecuencias no favorables para otras industrias como la agrícola ganadera.

Es importante recordar que es una zoonosis por lo que tomar medidas sanitarias y de control son primordiales para todas las instituciones que estén involucradas con esta enfermedad.

Es de gran importancia llevar a cabo campañas de capacitación y presentación de la enfermedad en diversos foros de especialistas y productores. En la medida que nuestras autoridades, industria, Médicos Veterinarios Zootecnistas y productores estén mejor preparados se podrá presentar un frente común ante este grave riesgo (**Fort Dodge, 2004**).

## 1.17 DIAGNÓSTICO

El aislamiento viral del VON se puede realizar a través de las siguientes muestras:

1. Extracción del encéfalo de equino
2. Toma de muestra para serología por venopunsion
3. Toma de muestra para líquido cefalorraquídeo
4. Toma de muestra en cadáver: (incluyendo corteza, tallo cerebral y cerebro medio)

(**Méndez y cols., 2003**).



Las pruebas a realizar para el diagnóstico del Virus del Oeste del Nilo serán: aumento del título de anticuerpos IgG, aislamiento viral en la sangre o en líquido cefalorraquídeo (LCR), detección de anticuerpos IgM o antígenos virales mediante pruebas serológicas (Méndez y cols., 2003).

#### 1.17.1 Pruebas de Diagnóstico

La infección de Virus del Oeste del Nilo se puede sospechar en equinos basada en síntomas clínicos (SAGARPA, 2003; CDC, 2003).

La experiencia de Estados Unidos, ha enseñado que debe incluirse el diagnóstico diferencial de esta infección ante un cuadro febril en verano y ante los casos de encefalitis. El método convencional de diagnóstico más utilizado es la serología. La serología puede realizarse con muestras de suero o de líquido cefalorraquídeo. Existen varios tipos de pruebas serológicas:

Hay 2 pruebas básicas -- serología y detección viral. La prueba serológica preferida es la prueba inmunoenzimática [ELISA, por sus siglas en inglés, enzyme-linked immunosorbent assay] para IgM o la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFA), y se utiliza la prueba de reducción de placas para confirmación -- utilizando suero o líquido cefalorraquídeo. Los métodos para detectar virus son la transcripción inversa seguida de reacción en cadena de la polimerasa [RT-PCR por sus siglas en inglés, reverse transcription polymerase chain reaction], amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos [NASBA por sus siglas en inglés, nucleic acid sequence-based amplification] o cultivo. La secuencia de eventos virales y clínicos depende de la viremia en los períodos de incubación con picos a varios días antes de la aparición de los síntomas. La IgM aparece cuando se resuelve la viremia y con la aparición de los síntomas. Estas observaciones explican la utilidad de las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos para el filtrado de donadores de sangre asintomáticos y el uso de la IgM para detectar la enfermedad en pacientes con síntomas (CDC, 2003).

- ELISA IgM de captura (IgM capture enzyme linked immunosorbent assay). El problema es que esta prueba no puede diferenciar entre la infección por los virus del mismo serogrupo: VON, SLE, JE.

- Seroneutralización: Detecta anticuerpos neutralizantes específicos de cada uno. El método de seroneutralización más usado es la reducción de placas (Plaque reduction neutralization assay –PRNT-). Requiere disponer de cada uno de los virus y es lento en realizarse.
- El aislamiento en cultivo celular con muestras de LCR, suero, o tejido, y para identificar el virus aislado requiere una prueba de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales. Sus limitaciones principales son que puede tardar una semana, se necesita la presencia de virus viable en las muestras y disponer de los anticuerpos monoclonales específicos para realizar la identificación del virus aislado (García, 2003).

Los métodos de microbiología molecular obvian los problemas anteriores. Se han utilizado distintas variantes de RT-PCR. El problema que pueden plantear es la variabilidad genética entre las distintas cepas. Así, la cepa de Uganda de 1937 tiene únicamente un 79% de similitud con la cepa aislada en Nueva York en 1999. Existen métodos publicados que detectan genes de grupo y otros métodos que detectan genes de cepas de virus concretos. El problema de los métodos publicados es que muchos han sido aplicados únicamente a cultivos de virus y por lo tanto la carga vírica es muy superior a la que puede encontrarse en las muestras (Huang y cols., 2002).

### **Resultados comunes del laboratorio de la enfermedad severa**

- ✓ La cuenta total leucocitaria en sangre periférica es sobre todo normal con elevada linfocitopenia.
- ✓ Hiponatremia está a veces presente, particularmente entre pacientes con encefalitis (30%).
- ✓ La examinación del líquido cefalorraquídeo demuestra pleocitosis, generalmente con un predominio de linfocitos. La proteína se eleva. La glucosa es normal.
- ✓ La tomografía computada no es útil en el diagnóstico de la infección de VON, sino es útil en excluir otras etiologías de la meningoencefalitis aguda.

Hiperproteinorraquia (rango de 38-317 mg/dl) con euglucorraquia (SAGARPA, 2003; CDC, 2003; Vargas y cols., 2004).

### **1.17.2 Aislamiento viral en mosquitos**

El aislamiento viral en mosquitos se llevará a cabo con el fin de identificar las especies vectores que participan en el ciclo de transmisión y enfocar las actividades de vigilancia, y llegado el caso de control hacia las formas larvarias y adultas de estas especies.

### **1.17.3 Aislamiento viral en ganado equino**

El ganado equino es en especial un huésped muy importante en la permanencia de esta enfermedad y su calidad como amplificador es conocida, por lo que es de suma importancia la vigilancia sobre esta especie.

Un diagnóstico de presunción puede basarse en los signos clínicos, la historia, y la ocurrencia estacional (el aumento de casos ocurre generalmente en verano), y es apoyado por el conocimiento de áreas endémicas o de una actividad epidémica conocida del virus.

Por lo que para la detección del virus en los caballos y en diferentes especies, se propone la recolección de muestras sanguíneas en los estados mencionados como de mayor riesgo, que a su vez cuentan con la presencia de aves migratorias, antecedentes históricos de brote de encefalitis y presencia del vector.

Las muestras recolectadas se analizarán con serología, se procesarán por el método de ELISA para buscar anticuerpos IgM. Una de las características más útiles de este método es la de proveer un diagnóstico rápido con una muestra. Entre 6 y 10 días después de haberse iniciado la enfermedad la detección de positivos es de más del 90% (Méndez y cols., 2003).

### **1.17.4 Diagnóstico de casos en humanos**

Se puede realizar basándose en los signos y síntomas antes descritos.

Se deberá incluir en este estudio condiciones de la vivienda a fin de determinar la fuente huésped-vector de la infección.

Además del estudio de actividades humanas, sociales y económicas tanto personales como del área que puedan facilitar la transmisión y su dispersión: movimientos humanos, presencia de vectores y hospederos infectados (aves domesticas, aves residentes silvestres y aves migratorias).



## **Diagnóstico serológico**

- Demostrar la presencia de anticuerpos IgM e IgG en sueros pareados (inicio de la enfermedad y convalecencia) o LCR por ELISA.
- Aislamiento del agente en cultivo celular a partir de suero, LCR, tejido cerebral o médula espinal.
- Identificación del agente por inmunofluorescencia indirecta.
- Identificación de ácido nucléico del VON por RT-PCR.

### **1.17.4.1 Diagnóstico clínico recomendado en los infantes de madres infectadas con Virus del Oeste del Nilo (VON) durante embarazo.**

- Un examen físico cuidadoso del recién nacido se debe realizar y debe incluir la medida de longitud, peso, y la edad de la gestación.
- El recién nacido se debe evaluar cuidadosamente para detectar las anomalías neurológicas, las características dismórficas, esplenomegalia, hepatomegalia y la erupción u otras lesiones de piel. Si se observa una anomalía se recomienda la consulta con un especialista apropiado.
- El suero infantil se debe obtener alrededor de las 8 semanas de edad y se debe de realizar la prueba para anticuerpo de IgM y de IgG y la prueba de VON.
- La examinación de la placenta por un patólogo es de ayuda. La placenta entera, una muestra de tejido del cordón umbilical, y una muestra del suero del cordón umbilical se deben conservar para la evaluación adicional si se identifica o se sospecha fuertemente la infección congénita de VON. Una sección de la placenta y del cordón umbilical debe ser congelada, y el resto de la placenta se debe preservar en formalina; una muestra de la sangre del cordón umbilical debe ser centrifugada, y el suero debe ser refrigerado o ser congelado.

### **1.17.5 Diagnóstico diferencial en equinos**

La primera enfermedad con la que hay que diferenciar al VON es con la enfermedad del Botulismo, Rabia y Mieloencefalitis protozoal equina, mielopatía de la vértebra cervical, Herpes Virus Equino 1, Mieloencefalopatía, Mielopatía degenerativa, Encefalitis Equina Oriental, Encefalitis Equina Venezolana, Encefalitis de Saint Louis (Tyler, 2001; Lee y cols., 2002).

## **1.18 MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA LA PRODUCCIÓN Y MANEJO DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO**

El VON es un agente clasificado como BSL-3 (Biosafety level tres). Por ello, se recomienda utilizar instalaciones de este nivel de seguridad biológica. Ello en esencia implica trabajar en laboratorios con doble puerta de acceso, presión negativa en su interior, limitación del acceso a personas y manipulación de las muestras en cabinas de seguridad biológica de clase IIA. Para manipular las muestras con fines diagnósticos en aquellos centros que no disponen de instalaciones de tipo BSL-3 puede utilizarse un laboratorio de bioseguridad de nivel 2, siempre que se cumplan condiciones como: salida del aire al exterior a través de un sistema de filtración, dirección de flujo de aire desde el exterior al interior del laboratorio, acceso restringido de personas al laboratorio durante el trabajo con las muestras, seguir las normas de trabajo en un laboratorio de bioseguridad de nivel 3, realización de las manipulaciones dentro de cabinas de bioseguridad de nivel 2, realizar todas las pruebas que puedan generar aerosoles, incluido los lavados de las pruebas de ELISA, en el interior de cabinas de seguridad de clase II (**García, 2003**).

### **Precauciones para la colecta de aves muertas y otros animales en el campo**

Las personas involucradas en la colecta de aves y otros animales muertos deberán seguir las siguientes recomendaciones de seguridad:

- Tomar todas las precauciones para evitar piquetes de mosquitos (por ejem. vestir camisa de manga larga, pantalones largos, calcetines, ropa de color claro y botas) y usar repelentes contra insectos (por ejemplo 20-30% DEET).
- Cuando sea posible, minimizar las actividades en el exterior en aquellos lugares y momentos en los que haya más probabilidad de encontrar mosquitos (por ejemplo al atardecer, por la noche y al amanecer).
- Cuando se manipulen aves muertas, deberá utilizarse guantes.
- Se recomienda utilizar guantes de hule y dos bolsas de plástico volteadas hacia afuera, sobre las manos, para coleccionar las aves muertas. Lavarse las manos después de manipular estos especímenes (**Méndez y cols., 2003**).

### **Precauciones para el manejo de muestras sospechosas en necropsias**

Cuando sea posible, las carcasas de los animales deben manipularse dentro de un gabinete de bioseguridad certificado.

- Las carcasas de mayor tamaño (por ejemplo de caballos) deberán manipularse usando medidas de protección equivalentes (por ejem. protección contra salpicaduras para los ojos; batas con frente de protección sólida; guantes de hule/, de látex, de vinil o de PVC etc.; y protección respiratoria (respiradores certificados por NIOSH N-95 a N-100, hemimascarilla o mascarilla completa).

### **Precauciones para el manejo de muestras clínicas sospechosas en humanos y animales (incluyendo muestras de aves)**

Las muestras clínicas humanas o animales potencialmente infecciosas (por ejem., sangre, suero, LCR, tejidos) pueden manipularse en un laboratorio de Bioseguridad Nivel 2, usando prácticas operacionales de Bioseguridad Nivel 3 como sigue:

- La colecta de sangre debe llevarse a cabo usando precauciones universales de bioseguridad (por ejem. uso de guantes, lavar las manos).
- La identificación de mosquitos, donde sea posible y práctico deberá realizarse en un laboratorio con Nivel de Bioseguridad 2.
- La centrifugación de muestras clínicas (por ejem. separación de sueros) debe realizarse usando tubos de centrifuga sellados o rotores que se carguen y descarguen dentro de un gabinete de bioseguridad.
- Las alícuotas usadas para serología deben inactivarse por calentamiento a 56°C por 30 minutos.
- Las pruebas de RT-PCR pueden realizarse en un laboratorio de Bioseguridad Nivel 2 usando prácticas operacionales de Bioseguridad Nivel 3. (Méndez y cols., 2003)



## **1.19 METODOS DE DETECCIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO**

La detección del VON ayuda a los funcionarios de la salud a predecir y prevenir infecciones de poblaciones de pájaros animales domésticos y el humano. La vigilancia para detectar VON debe centrarse en los componentes aviares y del mosquito del ciclo enzoótico de la transmisión. Los mamíferos no humanos, particularmente equinos, pueden también servir como centinelas eficaces debido a que se infectan más fácilmente que la gente (Gubler y cols., 2003).

### **1.19.1 Herramientas para la Vigilancia**

Algunos funcionarios de la salud incorporan en su estudio a los mosquitos, mientras que otros utilizan hospederos, por ejemplo, aves, caballos o humanos.

### **1.19.2 Vigilancia aviar de morbilidad y mortalidad**

La vigilancia parece ser el sistema más sensible de la detección temprana para la actividad de VON, y debe ser un componente del programa de la vigilancia del arbovirus de cada estado.

Debe incluir por lo menos dos elementos básicos: la divulgación y el análisis oportuno de las observaciones de pájaros muertos y del envío de los pájaros individuales seleccionados para la prueba de VON (Gubler y cols., 2000).

Se recomienda establecer un sistema permanente de inspección en zonas determinadas en búsqueda de aves muertas. Las zonas donde más fácilmente esto se puede realizar son aquellas fáciles de recorrer y con abundante número de aves, como parques y similares u otras zonas abiertas como las riberas y zonas de reserva forestal. Toda ave que se detecte muerta debe ser notificada con la información referente a sitio del hallazgo (con la mayor resolución posible), fecha y circunstancias en que se encontraba el cadáver (Díaz y cols., 2002).

## 1.20 ANIMALES CENTINELA

### 1.20.1 Vigilancia en Pollos Centinelas

La vigilancia por medio de aves vivas ha sido una estrategia tradicional en la vigilancia de arbovirus. En este sentido hay dos estrategias, una consistente en el monitoreo de aves cautivas, particularmente aves de corral (gansos, palomas y otras) y otra en la captura y estudio de aves libres.

Las especies a utilizar deben cumplir los siguientes criterios:

- Ser universalmente susceptibles a la infección
- Tener una sobrevida del 100% a la infección, así como desarrollar anticuerpos fácilmente detectables.
- No implicar riesgo de infección para los cuidadores y manipuladores
- No desarrollar viremia que permita la infección de nuevos vectores (**Díaz y cols., 2002**).

El grupo de pollos se ubican en sitios estratégicos y seguros, donde son expuestos a picadas de mosquitos. Muestras de sangre son extraídas semanalmente y son enviadas al Departamento de Salud del Estado. Los animales se mantienen en un solo sitio, y las muestras de sangre son obtenidas dentro de un horario fijo. El muestreo es activo, ya que no depende de reportes de otras personas, y no depende de reportes ocasionales del público. Un pollo positivo prueba que existe transmisión local reciente, y se puede calcular el momento de infección con bastante precisión (**Rey y col., 2004**).

### 1.20.2 Vigilancia en Caballos

Los equinos son los centinelas mas importantes de la actividad epizoótica de VON y del riesgo humano, por lo menos en algunas regiones geográficas.

Por lo tanto, la vigilancia para la enfermedad equina de VON se debe conducir en jurisdicciones donde están presentes los equinos (**Andreadis y cols., 2001**).

Las metas de la vigilancia equina de la enfermedad son:

- Utilizar datos sobre casos equinos de la enfermedad de VON.
- Determinar la amenaza de la enfermedad humana,
- Identificar áreas geográficas del alto riesgo, y determinar la necesidad de la sincronización de intervenciones.
- Recolectar suero y líquido cefalorraquídeo (CSF) para la prueba del anticuerpo. 2).- Tejidos finos de la autopsia (especialmente cerebro y médula espinal) para la patología, la histopatología, el Rt-pcr-pcr, el aislamiento del virus, e inmunohistoquímica.

Las ventajas de la vigilancia equina de la enfermedad incluyen lo siguiente: Los Equinos son altamente visibles, numerosos, y distribuidos extensamente en algunas áreas. Pueden ser particularmente centinelas útiles en las áreas rurales, donde los pájaros muertos pueden ser menos probables a ser detectados. Algunos equinos se sangran y se prueban rutinariamente para otros patógenos (**Gubler y cols., 2000**).

### **1.20.3 Vigilancia entomológica**

La vigilancia entomológica de la población de mosquitos de un área a riesgo debe incluir la composición y dinámica poblacional de especies, pero hacer énfasis en responder ciertas incógnitas de componentes fisiológicos, tales como preferencia de hospedero, actividad de picadura, comportamiento de oviposición, etc. (**Díaz y cols., 2002**).

#### **1.20.3.1 Pruebas en los mosquitos**

Se hacen colecciones de mosquitos, y los mosquitos se separan, se identifican, y se congelan.

Los mosquitos se deben mantener vivos hasta ser congelados. Las pruebas se hacen en grupos que contienen de una a 50 hembras por muestra, lo cual se conoce como pozo de mosquitos. Los mosquitos se deben mantener a una temperatura de -20°C hasta que se efectúen las pruebas (**Rey y col., 2004**)

La vigilancia basada en el mosquito sigue siendo la herramienta primaria para cuantificar la intensidad de la transmisión del virus en un área, y debe ser un apoyo principal en la



mayoría de los programas de la vigilancia para VON y otros arbovirus (**Andreadis y cols., 2001**).

#### **1.20.3.2 Metas en la vigilancia de mosquitos**

Proporcionar los datos sobre los índices de infección de las poblaciones y del virus del mosquito para determinar la amenaza de la enfermedad en humanos; identificar áreas geográficas del alto riesgo; determinar la necesidad de la sincronización de intervenciones; Identificar los hábitat larvales para el control apuntado; supervisar la eficacia de este tipo de vigilancia y mejorar medidas de la prevención y de control; desarrollar una comprensión mejor de los ciclos de la transmisión y de la especie potencial del vector.

#### **1.20.3.3 Ventajas en la vigilancia de mosquitos**

Puede proporcionar la evidencia más temprana de la transmisión en un área, ayuda a establecer la información sobre especie potencial del vector del mosquito, proporciona una estimación de la abundancia de la especie del vector, da la información cuantificable sobre índices de infección del virus en diversas especies del mosquito, proporciona la información cuantificable en riesgo potencial a los seres humanos y a los animales, proporciona los datos de la línea de fondo que se pueden utilizar para dirigir operaciones de control de la emergencia, permite la evaluación de los métodos de control (**Díaz y cols., 2002**).

#### **1.20.4 Vigilancia para los casos humanos**

El objetivo primario de los sistemas de vigilancia epidemiológica es la prevención de la infección y enfermedad en humanos. En caso de que la actividad arboviral sea improbable o los recursos para desarrollar sistemas de vigilancia entomológica o basada en aves sean escasos, los sistemas que se fundamentan en la detección de casos humanos se convierten en las principales, incluso únicas, fuentes de información de la actividad del VON.

Estas se fundamentan en estudiar al menos los pacientes hospitalizados con diagnóstico de etiología desconocida junto con los pacientes de encefalitis (**Díaz y col. 2002**).

##### **1.20.4.1 Metas de la vigilancia para los casos humanos**

- Determinar el estado y el impacto nacional de la salud pública de la enfermedad de VON y supervisa tendencias nacionales;
- Demostrar la necesidad de programas de la intervención de la salud pública;

- Identificar los factores de riesgo para la infección y determina a poblaciones de riesgo elevado;
- Identificar áreas geográficas en la necesidad de intervenciones dirigidas;
- Identificar las áreas geográficas en las cuales puede ser apropiado conducir estudios analíticos de las ediciones importantes de la salud pública (**Gubler y col. 2000**).

### **1.20.5 Pruebas serológicas en Aves Silvestres**

Se conducen pruebas repetidamente para los anticuerpos de virus en poblaciones locales de aves silvestres. Se atrapan aves adultas e inmaduras se marcan con bandas en las patas, se extrae una muestra de sangre de cada ave, y las aves se liberan para ser capturadas nuevamente.

Los anticuerpos pueden persistir en las aves por más de dos años, por lo cual una prueba positiva no significa que el ave fue infectada recientemente, pero aves jóvenes aún en el nido que prueben ser seropositivas o positivas para el virus ofrecen evidencia de infección reciente.

### **1.21 PREVENCIÓN**

Una forma limitada de luchar contra la enfermedad es evitando la exposición a las picaduras de mosquitos, manteniendo los caballos en el interior de los establos en los momentos de mayor riesgo de picaduras de mosquitos (tarde y noche), así como utilizando insecticidas y repelentes de mosquitos

Usando abanicos en los establos se puede reducir la habilidad que los mosquitos hembras alimentarse de los caballos. En este sentido, se están investigando larvicidas para luchar contra las larvas de los mosquitos. Además, se recomienda el control de todos los lugares donde puedan desarrollarse las larvas de mosquitos, incluido las cubiertas de ruedas de vehículos que puedan acumular agua. (**García, 2003**).

La prevención ideal es mediante vacunas de uso veterinario. Estas vacunas se comenzaron a desarrollar y producir en "Fort Dodge Animal Health". Esta empresa obtuvo una "aprobación condicional" del Departamento de Agricultura Americano el primero de agosto de 2001. La aprobación condicional se otorgó por tratarse de una situación que requería una actuación urgente, por haberse demostrado que el producto tenía suficiente pureza y

seguridad, y al mismo tiempo se tenía una esperanza razonable de eficacia, aunque no se tuviese en aquel momento información suficiente de su eficacia y potencia.

La vacuna existente requiere dos dosis de 1 ml intramusculares separadas tres a seis semanas entre ellas y una dosis de refuerzo anual. No se han observado efectos adversos importantes en los animales.

Algunos se habían planteado la posibilidad de que se pudiese proteger a los caballos con las vacunas utilizadas para inmunizar frente a la infección por el virus de la Encefalitis Equina Occidental –WEE- (Western Equine Encephalitis) o el virus de la Encefalitis Equina Oriental –EEE- (Eastern Equine Encephalitis), pero no es posible al no existir reacción cruzada entre estos dos virus y el VON aunque sean de la misma familia (**García, 2003**).

### **1.21.1 Vacuna del Virus del Oeste del Nilo (VON)**

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) otorgó a Fort Dodge Animal Health una licencia condicionada para la prevención de la enfermedad del Virus del Oeste del Nilo en equinos. La disponibilidad del producto fue posible gracias al importante trabajo de científicos del Centro del Control de Enfermedades (CDC) y la eficiente evaluación de la vacuna de Fort Dodge Animal Health por científicos de la USDA.

#### **1.21.1.1 Características de la vacuna**

- Virus inactivado (virus muerto).
- Vacuna segura, pura, y tiene una expectación de eficacia razonable.
- Existen estudios de eficacia, donde se demuestra hasta un 94% de efectividad.
- Posee un adyuvante de alta tecnología.
- Presentación frasco de 10 dosis.

La recomendación que hace el laboratorio, para la vacunación con la vacuna del Virus del Oeste del Nilo en caballos adultos es la siguiente:

Aplicar una dosis (1ML) intramuscular y una segunda dosis (1ML) a las 3- 6 semanas posteriores a la primera aplicación, se debe de aplicar una dosis (1ML) anual como refuerzo. En caso de tener una alta prevalencia de la enfermedad en la zona se recomienda acortar el refuerzo y vacunar cada 6 meses. (**Fort Dodge, 2004**).



### **1.21.2 Vacunas humanas**

Para uso humano se han desarrollado dos tipos de vacunas recombinantes. La primera de ellas se preparó utilizando un virus similar al VON pero sin el neurotropismo de éste. El virus utilizado fue el virus del Dengue tipo 4. Esta investigación fue realizada por un equipo del NIAID (National Institute for Allergy and Infectious Diseases) y del Walter Reed Army Institute of Research. La vacuna se preparó con una cepa atenuada del virus del Dengue en el que se sustituyeron los genes inductores de anticuerpos neutralizantes, por los genes equivalentes del VON (**Pletnev y col. 2002**).

La segunda vacuna que se ha elaborado, y que fue sometida a ensayos clínicos a principios de 2003, es la ChimeriVax-West Nile producida por Acambis. En modelos experimentales preclínicos la vacuna induce niveles elevados de anticuerpos neutralizantes y se ha demostrado que protege frente a la exposición a cepas del VON salvaje (no adaptadas al laboratorio). Esta vacuna se ha preparado con una cepa de virus recombinante preparada a partir de la cepa atenuada 17D del virus de la fiebre amarilla utilizada para las vacunas frente a esta infección. En esta cepa atenuada se han sustituido los genes que codifican los antígenos de envoltura, inductores de anticuerpos neutralizantes, por los genes correspondientes del VON.

### **1.21.3 Reportes de los casos sospechoso en caballos**

Se anima a los dueños de caballos contactar a las autoridades respectivas si sus animales muestran señal de enfermedad incluyendo pérdida del apetito, fiebre, temores, debilidad, o no pueden pararse.

Los veterinarios deben reportar todos los casos de encefalitis equino. Cualquier caso del Virus del Nilo Occidental en caballos y otros equinos deben ser reportados. (**García, 2003**).

#### **1.21.3.1 Sacrificio humanitario en equinos**

El sacrificio de equinos de realizarse de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 16 de julio de 1996.

a) Insensibilización.

b) El sacrificio humanitario se realizará con el desangrado por corte de yugular. Este se debe realizar dentro de los 30 segundos después de la insensibilización.

#### **1.21.4 Medidas de protección para evitar las picaduras de mosquitos**

El control de mosquitos vectores del virus deberá realizarse de manera integral por medio de:

- a) Eliminación de larvas mediante la destrucción de criaderos de vectores por medios manuales y físicos: limpieza de algas verdes filamentosas, eliminación o protección de recipientes domésticos con participación comunitaria.
- b) Aplicación de medidas antilarvarias como complemento a las actividades de participación comunitaria. Se utilizarán los métodos de control físico, biológico y químico aprobados por la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, para la Vigilancia, Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector.
- c) Nebulización terrestre y aérea. Se utilizarán los plaguicidas aprobados por Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, para la Vigilancia, Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector.
- e) Promoción y transferencia de acciones a las Autoridades Municipales en el control de mosquitos, en la Participación Comunitaria y en los Programas de Saneamiento Básico y Mejoramiento de la Vivienda.
- f) Difusión de medidas de protección y de material didáctico de apoyo dirigido a:
  - Población en general
  - Grupos de alto riesgo
  - En el hogar
  - Personal de salud (**SAGARPA, 2004**)

##### **1.21.4.1 Difusión de la Información**

Publicar información exacta través de los medios de comunicación para educar al público sobre la prevención de la enfermedad, consejos para prevenir la invasión del hogar por los vectores infectados e información sobre los medios más eficaces de protección personal. La comunidad debe motivarse adecuadamente para que colabore en los programas nacionales de vigilancia, prevención y control de enfermedades, por lo que es necesario el desarrollo de programas educativos y de divulgación extensos y comprensivos (**Méndez y cols., 2003**).

Aunque aún se desconoce la magnitud del riesgo por contagio del virus del Oeste del Nilo (VON), se recomienda evitar al máximo la exposición a las picaduras de mosquitos. Aquellos que transmiten el VON son por lo general más activos durante el atardecer, la noche y el amanecer. Por ello, es necesario prestar especial atención a las siguientes medidas de prevención y protección.

- Reducir, en lo posible, las actividades en espacios abiertos durante el anochecer y el amanecer.
- Usar pabellones en caso de pernoctar en espacios descubiertos.
- No usar lociones ni cremas aromatizadas que puedan servir de atrayentes al mosquito, especialmente en espacios abiertos (SAGARPA, 2004).

#### **1.21.4.2 Practicar acciones permanentes de patio limpio**

- Mantener barrido y ordenado el patio todos los días.
- Desyerbar o chaponear el domicilio y peri domicilio de la vivienda.
- Recolección de basura y desechos sólidos.
- Aseo del interior de la vivienda y ordenamiento de la misma.
- Mantener limpios y ordenados corrales y jaulas de animales.
- Eliminación de recipientes en desuso que puedan servir de criaderos de mosquitos.
- Cubrir o eliminar llantas, ya que son criaderos (SAGARPA, 2004).

#### **1.21.4.3 Medidas de protección para evitar el desarrollo de larvas**

- Protección de recipientes (tanques, tambos, pozos, cisternas, aljibes, piletas, tinacos y cubetas) con tapas herméticas o de plástico para evitar que los mosquitos entren a depositar sus huevecillos y haya producción de larvas (maromeros, corta tripas, etc.).
- Lavar y cepillar recipientes que se encuentren descubiertos cuando menos tres veces por semana (floreros, bebederos, etc.).
- Solicitar producto antilarvario en cualquier unidad del Sector Salud para el tratamiento del agua almacenada.



- Realizar limpieza y mantenimiento adecuado y continuo a peceras, albercas y balnearios.
- En áreas donde existan ríos o arroyos, se deberán mantener los márgenes libres de basura y algas.

#### **1.21.4.4 Prevención para Niños y Jóvenes**

Los niños y jóvenes no presentan un mayor riesgo que el resto de la población; no obstante, el uso de repelentes con DEET al 20%; especialmente conviene usarlo durante el atardecer y el amanecer.

- Los niños que van a la escuela por la mañana no presentan mayor riesgo a la picadura de mosquitos. Por el contrario, los que asisten al turno vespertino tendrán que seguir las recomendaciones en cuanto a vestimenta y uso de repelentes. También cuando haya excursiones o salidas al campo, especialmente donde el ambiente presente condiciones acuáticas, arbustos o pastos o donde se observe abundantes mosquitos.
- Es recomendable instalar mosquiteros en puertas y ventanas de los salones de clase.

#### **1.21.4.5 Prevención en personas mayores de 50 años**

De acuerdo con los casos presentados hasta ahora en los Estados Unidos, tal parece que las personas mayores de 50 años presentan una mayor sensibilidad a desarrollar la enfermedad si son infectados por el VON. Por tanto, es necesario prestar especial atención a las recomendaciones generales.

#### **1.21.5 Utilización de repelentes**

Se deben usar repelentes que contengan el ingrediente activo DEET, (dietiltoluamida), con una concentración de hasta el 35% en adultos y 20% en niños, especialmente durante el atardecer y al amanecer (que es el periodo de mayor actividad del mosquito) y repetir la aplicación cada tres horas.

También se recomienda su uso en trabajadores expuestos; es decir, que trabajen en zonas abiertas (CFE, PEMEX, INEGI etc.), en adultos mayores y niños, sobretodo cuando realicen actividades al aire libre.

No se deberá aplicar este producto a los menores de 5 años o cuando se tenga la piel irritada o con quemaduras.

#### **1.21.5.1 Insecticidas de uso doméstico**

Con la finalidad de disminuir el riesgo de picadura de mosquitos en el hogar, se recomienda la aplicación eventual de insecticidas de uso doméstico en el interior de la casa, especialmente al atardecer (periodo de mayor actividad del mosquito) y durante la época de lluvias (condiciones favorables para la mayor reproducción de mosquitos).

En cuanto al tipo de insecticida, deben utilizarse aquellos formulados a base de piretroides (deltametrina, ciflutrin, permetrina) porque son biodegradables y de baja residualidad en el ambiente (ecológicos) (SAGARPA, 2004).

### **1.22 TRATAMIENTO**

#### **1.22.1 Tratamiento en equinos**

No existe tratamiento específico antiviral y lo único que se puede hacer es controlar sus contracturas y mantener su hidratación y nutrición (García, 2003).

El tratamiento de la forma severa de la enfermedad es solo de soporte mediante el manejo de líquidos, apoyo ventilatorio y prevención de infecciones secundarias. Se pueden usar esteroides, anticonvulsivos y agentes osmóticos en casos necesarios.

Los agentes terapéuticos que reciben más atención son: antivirales (6-azauridine, cyclopentenylcytosine, pyrazofurin, ácido micofenólico); un agente antisentido; interferón e inmunoglobulina intravenosa (IVIG). La ribavirina en altas dosis e interferon alfa-2b han demostrado efectividad in vitro en contra del VON pero hasta la fecha no existen estudios clínicos que hayan demostrado su eficacia (Vargas y cols., 2004). Las pruebas con interferón fracasaron con la encefalitis B japonesa y son vistas con escepticismo.

El Dr. Whitely presentó un protocolo actual aprobado por el NIH [National Institutes of Health] con IVIG hiperinmune. Este producto ha mostrado tasas de respuesta de 100% en un modelo animal y se utiliza clínicamente en Israel.

### **1.22.2 Perspectivas terapéuticas humanas**

Únicamente existen algunas experiencias *in vitro* que esperan poder confirmarse *in vivo*: ribavirina e interferón-alfa 2b (Anderson y cols., 2002). Existe descrita una mejoría importante tras la administración de un preparado de inmunoglobulinas en Israel en el que después se demostró que existían anticuerpos frente al virus (Shimoni y cols., 2001).

### **1.23 PRONÓSTICO**

Las secuelas neurológicas son comunes entre los sobrevivientes. La mitad de los pacientes egresan con déficit funcional importante y solo un tercio tiene recuperación total después de un año

Entre los factores de mal pronóstico identificados además de la edad se encuentra la presencia de parálisis flácida, coma, falla de producción de anticuerpos IgM uso de fármacos inmunosupresores y comorbilidad como hipertensión o diabetes (Vargas y cols., 2004).



## **MARCO DE REFERENCIA**

El territorio del estado de Durango esta comprendido entre los paralelos correspondientes a 26°48', al sur 22°19' de la latitud norte y entre los meridianos al este 102°28', al oeste 107°11' de longitud occidental con relación al meridiano de Greenwich.

La superficie de su territorio es de 123,181 m<sup>2</sup> y representa el 6.3% de la superficie del país.

El estado de Durango colinda al norte con Chihuahua y Coahuila de Zaragoza; al este con Coahuila de Zaragoza y Zacatecas; al sur con Zacatecas, Nayarit y Sinaloa; al oeste con Sinaloa y Chihuahua. La capital de este estado es Victoria de Durango, consta de 39 municipios en total, de los cuales se realizó el monitoreo en los municipios de Canatlán, Nuevo Ideal y Durango.

## **CANATLÁN**

El municipio de Canatlán se localiza entre los paralelos 24°12'30'' y 24°50'30'' latitud norte y los meridianos 105°30'15'' y 104°26'45'' longitud oeste, a una altura promedio de 1,960 metros sobre el nivel medio del mar. Limita al norte con los municipios de Nuevo Ideal y Santiago Papasquiaro; al sur y sudeste con el municipio de Durango; al este con los municipios de San Juan del Río, Coneto de Comonfort y Pánuco de Coronado; oeste y sudoeste con el municipio de San Dimas.

Se divide en 156 localidades, de las cuales las más importantes son: Canatlán, Donato Guerra, J. Guadalupe Aguilera, La Saucedá, El Tule, San José de Gracia y Santa Lucía.

### **Extensión**

El municipio de Canatlán tiene una extensión de 4,686.10 km<sup>2</sup> que representan el 2.9 % de la superficie total del estado.

### **Hidrografía**

#### **Presas**

Caborca: En el río La Saucedá, inaugurada el día 22 de mayo de 1992. Con capacidad de 45,000,000 de m<sup>3</sup>.

El Baluarte: En el arroyo Los Mimbres, con capacidad de 14,712,000 m<sup>3</sup>.

San Bartolo: En la laguna San Bartolo, con capacidad de 48,500,000m<sup>3</sup>.

## **Ríos**

La Sauceda: Afluente del Río Tunal.

Palomas: Afluente del Río Santiago.

Arroyo de Sauces

Arroyo de Mimbres: afluente del Río La Sauceda.

## **Lagunas**

Santiaguillo: Intermitente.

San Bartolo: Intermitente.

## **Clima**

La mayor parte del municipio tiene un clima templado; la temperatura media anual es de los 15.4°C y una precipitación anual media de 550 milímetros, con un régimen de lluvias de junio a septiembre. El promedio de días con heladas al año es de 60.4, presentándose la primera helada en octubre y la última en abril.

## **Flora y fauna**

En las partes altas del municipio la flora esta formada por la especie de las perennifolias, muestras que en las partes bajas se constituye con las caducifolias. La fauna esta formada, entre otras especies por venado, oso, guajolote, jabalí americano

## **Principales Sectores, Productos y Servicios.**

### **Agricultura**

De los cultivos destacan: avena forrajera, maíz grano, manzana y trigo grano.

### **Ganadería**

Se cría ganado bovino de leche y carne, porcino, equino, caprino y diversas aves.

### **Industria**

Enlatadora de jugos.

### **Pesca**

Se realiza en las Lagunas de San Bartolo y Santiaguillo.

### **Comercio**

Se localizan establecimientos de hospedaje, reparación de vehículos, de aparatos eléctricos, distribución de comestibles, preparación de alimentos y bebidas, limpieza, asistencia y esparcimiento.

## **DURANGO**

El municipio de Durango se localiza en la parte norte del país, y en el centro oeste de la altiplanicie mexicana; está comprendido entre los paralelos correspondientes a los 22°40' y 26°50' de latitud norte y entre los meridianos 102°25'55" y 107°08'50" latitud occidental con relación al Meridiano de Greenwich.

Limita al norte con los municipios de Canatlán y Pánuco de Coronado; al noroeste con el de Guadalupe Victoria; al sur con el de Pueblo Nuevo y Mezquital; al este con Nombre de Dios y Poanas, y al oeste con los municipios de Pueblo Nuevo y San Dimas.

### **Extensión**

El municipio posee un territorio con una superficie de 10,041 kilómetros cuadrados. Su mayor longitud es de 520 kilómetros y 480 kilómetros de oriente a poniente.

### **Orografía**

Destacan por sus características dos regiones, la occidental o de la sierra y la oriental o de los valles.

### **Hidrografía**

La región oriental o de los valles es importante por su gran riqueza agrícola, ya que confluyen a ella los ríos Tunal, La Sauceda y el de Santiago Bayacora. Las aguas de todos estos ríos dan vida a la región y han logrado que existan asentamientos humanos desde hace cuatro siglos, que hasta la fecha persisten y se multiplican.

### **Clima**

El clima es templado en la porción occidental o de la sierra, la temperatura media anual es de 15°C y la precipitación pluvial media anual de 1,600 milímetros. En la región oriental, la temperatura media anual es de 19°C y precipitación de 600 milímetros, lo cual hace que el clima de este municipio sea uno de los más benignos y muy aceptado por los visitantes, quienes encuentran en él un lugar para vivir tranquilamente, sin problemas que ocasionan temperaturas extremas.

### **Principales Ecosistemas**

#### **Flora y fauna**

La vegetación de este municipio en su mayor parte es de bosques.



Las especies silvestres que se encuentran en este municipio son: venado, gato montés, coyote, liebre, conejo y pato.

Principales Sectores, Productos y Servicios

### **Agricultura**

En la actividad agrícola destacan los cultivos de maíz, frijol, trigo, hortalizas y algunas variedades forrajeras como alfalfa y avena.

### **Ganadería**

Se cría ganado bovino de leche y carne, porcino, y diversas aves.

### **Minería**

Existe hierro y plata.

### **Industria**

La industria en los últimos años se ha incrementado, contribuyendo a la capacitación de mano de obra que emigra a la ciudad; el principal ramo de la industria es el de celulosa.

## **NUEVO IDEAL**

La cabecera municipal de Nuevo Ideal se localiza en el paralelo 24° 53' latitud norte y en el meridiano 105° 04' de longitud oeste. Está limitado como sigue: al Norte con Santiago Papasquiaro, al Sur con Canatlán, al Este con Coneto de Comonfort, al Oeste con Santiago Papasquiaro. Se ubica a 120 kilómetros de la capital del estado, con una altura aproximada de 1,920 metros sobre el nivel del mar.

### **Extensión**

El Municipio de Nuevo Ideal posee un territorio con una superficie total 2,039 kilómetros cuadrados

### **Hidrografía**

El municipio cuenta con los siguientes arroyos: Guanajuato de la Magdalena, San Miguel y Tinajuelas que solamente en tiempos de lluvia arrastran aguas de las presas de Tejamén y Villa Hermosa. El río Guatimapé cruza su territorio y canaliza sus aguas en la Laguna de Santiaguillo. Cuenta, además, con 1,300 pozos profundos de diferentes características y tajos a cielo abierto.

### **Clima**

El clima es templado con una temperatura promedio anual de 25°C y una precipitación de

500 mm anuales de lluvia. Los vientos predominantes provienen del sur y del oeste.

### **Principales Ecosistemas.**

#### **Flora**

La vegetación predominante en la parte del valle esta constituida por el huisache, sauz, manzano, perón, durazno, peral, rosas, eucalipto, pinabete, lila moral, trueno, olmo. En la zona boscosa, de manera preferente al noroeste de ésta, existen pinos, encinos y robles.

#### **Fauna**

Oso, lobo, coyote y todo el animal doméstico (**Durango 2005**)

## **MATERIALES Y METODOS**

### Tamaño de muestra

Se recolectaron 200 muestras serológicas de ganado caballar en tres de los municipios del estado de Durango, con la finalidad de demostrar la presencia del virus del Oeste del Nilo en dichas regiones.

El presente trabajo se realizo en dos fases: Fase de campo (muestreo serológico) y fase de laboratorio.

### **FASE DE CAMPO**

Se recolectaron 200 muestras de las cuales 80 fueron tomadas del municipio de Canatlán, 70 en Nuevo Ideal y 50 en Durango.

Antes de tomar las muestras se les hizo saber a los ayudantes de dichos municipios el motivo por el cual se tomarían las muestras así como la peligrosidad de dicha enfermedad, el ayudante de cada comunidad a su vez informó a los habitantes que fuesen propietarios de ganado caballar las intenciones que se tenían con la toma de muestras, posteriormente se procedió a tomar muestras sanguíneas de 200 caballos no vacunados.

La sujeción de los caballos la realizaron los dueños previo aviso del día de la toma de las muestras. El material que se utilizó fue el siguiente:

Material:

- Bata, guantes, mascarilla y protección para los ojos.

- Se tomaron 5 ml de sangre total para cultivo (vacutainer heparinizado o con anticoagulante).
- Se tomaron 5 ml de sangre para detección de anticuerpos (sin anticoagulante).
- La muestra de sangre se centrifugo, para separar el suero, durante 10 minutos, a una velocidad de 3,000 a 6,000 r.p.m. (de acuerdo a la capacidad de la centrifuga).
- El suero obtenido se repartio en al menos 2 críotubos de 2 ml cada uno (a fin de conservar el agente etiológico y lograr su aislamiento congelar inmediatamente en hielo seco).

Cada críotubo se etiqueto previamente con el nombre del paciente, tipo de muestra y fecha de muestreo (día/mes/año).

Procedimiento:

Se procede a extraer sangre de la vena yugular en un tubo, Una vez tomadas las muestras fueron centrifugadas y parte del suero resultante de la centrifugación fue introducido en diales aproximadamente dos mililitros por dial que fueron puestos en una hielera con hielo seco o suficiente refrigerante y fueron enviadas a la ciudad de México para su posterior análisis, este, se llevo acabo en el laboratorio de la CPA (Comisión México Estados Unidos para la prevención de la Fiebre Aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales) ubicado en el Km.15.5 de la carretera México-Toluca, colonia palo alto, delegación cuajimalpa, c.p. 05110, México D.F.

Para su envío los sueros se conservaron en refrigeración a cinco grados centígrados y/o congeladas a menos 20 grados centígrados por más tiempo, las muestras enviadas se identificaron perfectamente con una etiqueta adherible o marcador indeleble. Se puede incluir la colección de sangre completa (en un tubo de 10 ml EDTA tapa lavanda), pero tiene menos importancia, al igual que la colección de líquido cefalorraquídeo.

Se utilizo una hoja de datos que contenia la siguiente información;



<b>REMITENTE</b>				
Nombre: _____				
Dirección: _____				
	Localidad	Municipio	Estado	Teléfono
<b>DATOS DE LA MUESTRA</b>				
Especie _____				
Raza _____				
Edad _____				
Sexo _____				
<u>Fin zootécnico</u> _____				
Fecha de la toma de muestra _____				
Hora de la toma de muestra _____				

### **FASE DE LABORATORIO**

El aislamiento viral se realizó en el laboratorio de la comisión México-Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y Otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA).

El suero de los diales una vez que llegó al laboratorio se sometió al siguiente procedimiento:

1. Se centrifugó a 2500 rpm. Durante 20 minutos; se decantó y filtró por membrana millipore de 0.45 micras.
2. Se inocularon 5 embriones de 9 a 11 días de edad con 0.2 ml del sobrenadante por vía alanto-alantoidea;
3. Se examinaron los embriones con ovoscopio por lo menos cada 24 horas. Los embriones que se mueren en 24 horas se consideran muertos por traumatismo. Generalmente el virus VON mata a los embriones entre los dos y siete días post-inoculación, por lo que todos los embriones que mueran después de las 24 horas, deben conservarse en refrigeración a cuatro grados centígrados para pruebas posteriores. El fluido amnio-alantoideo de los embriones muertos, tienen niveles suficientes de hemoaglutininas para producir la aglutinación de eritrocitos de pollo.

Esta propiedad provee una base conveniente y sencilla para la identificación del virus mediante la aglutinación en placa y la inhibición de la hemoaglutinación por un suero monoespecífico.

4. Se obtuvo fluido amnio-alantoideo de cada embrión muerto utilizando una jeringa para tuberculina.
5. Se colocaron 0.050 a 0.100ml de fluido en tres sitios diferentes sobre una placa de vidrio.
6. La primer gota fué únicamente fluido amnio-alantoideo, a la segunda se le añadió un volumen igual de suero negativo y a la tercera antisuero contra el VON (suero positivo), se mezcló bien utilizando palillos de madera diferente para cada gota y se incubó de tres a cinco minutos a temperatura ambiente.
7. Se añadió a cada una de las suspensiones 0.050 a 0.100 ml de eritrocitos lavados de pollo al 5% y se mezcló con palillos. Se movió la placa suavemente por 10 a 15 segundos y se observó si había hemoaglutinación.
8. Si la muestra resultase se observará hemoaglutinación en la suspensión de fluido más eritrocitos y en la de fluido más suero negativo más eritrocitos y además se presentará una inhibición de la hemoaglutinación en el fluido más suero contra VON más eritrocitos.

Los embriones muertos después de las 24 horas se mantubieron en refrigeración mínimo 30 minutos, para una obtención mas fácil del fluido alantoideo libre de eritrocito que pueden alterar la lectura de la reacción. Posteriormente, se examinó únicamente el fluido amnio-alantoideo de color claro o ligeramente rojizo. Si se utilizan fluidos hemolizados o contaminados se pueden presentar reacciones falsas positivas. El VON es un contaminante en el laboratorio; por lo tanto se deberán tomar precauciones para evitar la contaminación de las muestras en proceso.

## **RESULTADOS**

En el presente estudio se obtuvieron 200 muestras serológicas de ganado caballar en el estado de Durango, en los municipios de Canatlan, Nuevo Ideal y Durango, de las cuales 80 fueron tomadas del municipio de Canatlan, 70 en Nuevo Ideal y 50 en Durango.

Posteriormente las muestras fueron enviadas al laboratorio de alta seguridad de la CPA, las muestras fueron negativas a el aislamiento viral, siendo una prueba de diagnostico 100% confiable, por tanto se considera que el ganado caballar esta libre de Virus del Oeste del Nilo

## **CONCLUSIONES**

El VON no afecta exclusivamente a las aves. También afecta a los seres humanos por medio de las picaduras de los mosquitos infectados (no hay pruebas de que se pueda adquirir el virus tocando las aves muertas). En México se ha declarado una emergencia nacional por la infección de sus caballos. Además, se ha encontrado el virus en varios otros mamíferos y aun lagartos. Por supuesto, disminuye poblaciones de aves domésticas como las gallinas comunes, con un efecto económico muy negativo, además de afectar las mascotas y las aves que están en los zoológicos.

Nuestro país presenta condiciones climáticas adecuadas, a niveles locales, presencia de especies de vectores y vertebrados susceptibles a VON; por lo cual, es necesario iniciar actividades enfocadas a una vigilancia epidemiológica adecuada para detectar oportunamente, si es el caso, la introducción del virus en territorio mexicano.

Se necesita que exista una necesidad de educación entre los veterinarios referente a las áreas de prevención, control, y tratamiento del VON. Los estudios futuros deben ser conducidos para examinar el conocimiento y las creencias sobre las estrategias de vacunación y prevención del VON por parte de los dueños.

En el presente estudio todas las muestras enviadas al laboratorio de alta seguridad de la CPA resultaron negativas a la presencia del VON, esto no indica que toda la población de ganado caballar en el Estado de Durango se encuentre libre del VON, por tanto es de suma importancia realizar estudios mas amplios en lugares donde haya mas ganado caballar.



## LITERATURA CITADA

Anderson JF, Rahal JJ. 2002. Efficacy of interferon alpha-2b and ribavirin against West Nile virus in vitro. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 107-108.

Andreadis TG, Anderson JF, Vossbrinck CR. 2000. Mosquito surveillance for West Nile virus in Connecticut: Isolation from *Culex pipiens*, *Culex. restauns*, *Culex salinarius*, and *Culisetamelanura*. *Emerg. Infect. Dis.* 7(4): 670-4.

Bachmann F, Paul J, Gibbs, Frederick A, Murphy, Michael J, Studdert, David O, White. 1987. *Virología Veterinaria* Ed: Acribia, S.A. Zaragoza (España).

Brinton MA. 2002. The molecular Biology of West Nile Virus: A New Invader of de Western Hemisphere. *Annu. Rev. Microbiol.* 56:371-402.

Bunning ML, Bowen RA, Cropp CB, Sullivan KG, Davis Bs, Komar N, Godsey MS, Hettler DBDL, Holmes DA, Biggerstaff BJ, Mitchell CJ. 2002. Experimental Infection of Horses With West Nile Virus. *Emerging Infectious Diseases.* 8(4): 1-19

Castro Sansores Carlos J, Pérez Carrillo Humberto. 1997. Enfermedades Emergentes y Reemergentes en Yucatán a Finales del Siglo XX. Centro de investigaciones regionales, Universidad Autónoma de Yucatán. *Rev. Biomed.* 8: 247-265.

Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2004. Epidemic/Epizootic West Nile Virus in the United States. <<<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile>>> fecha de consulta:12/02/05

Center for Disease Control and Prevention (CDC) 2003. *Emerging Infectious Diseases.* 9 (7): 860-863. <<<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no12/03-0564.htm>>> fecha de consulta:20/03/05

Cernescu C, Nedelcu NI, Tardei G, Ruta S, Tsai TF. 2002. Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998. J Infect Dis. 181: 710-2.

Díaz Martínez Luis Alfonso, Cáceres Manrique Flor de María, Muñoz Gerardo. 2002. Apuntes para el Desarrollo de Sistemas de Vigilancia para la Detección Precoz del Virus del Oeste del Nilo. Asociación Colombiana de Infectología. Infecto 6(4):226-234

<<[http://www.infectio.org/pdf/vol6/n4/V6N4\\_2002\\_ARTICULO04.pdf](http://www.infectio.org/pdf/vol6/n4/V6N4_2002_ARTICULO04.pdf)>> fecha de consulta:09/05/05

Epidemiología. 2003. El Virus del Oeste del Nilo (VON) en las Americas. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica 34(20):1-3.

<<[http://www.specifysoftware.org/Informatics/bios/biostownpeterson/P\\_Epi\\_2003b.pdf](http://www.specifysoftware.org/Informatics/bios/biostownpeterson/P_Epi_2003b.pdf)>> fecha de consulta: 12/02/05

Florida. 2000. La Introducción en 1999 del Virus del Nilo Occidental a América del Norte. University of Florida FMEL Online Publications.

<<<http://eis.ifas.ufl.edu/w Nile/spwestnile.htm>>> fecha de consulta:22/05/05

Fort dodge. 2004. Virus del Oeste del Nilo (VON). Animal Health.

<<<http://www.fortdodge.com.mx/productos/nilo.htm>>> fecha de consulta:12/04/05

Galván Robert, Antonio Rene, Singh K.P. 2004. Tratamiento e Impacto Económico del Virus del Oeste del Nilo en Equinos. Departamento de Administración y Políticas Públicas, Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad del Norte de Texas en Forth Worth,

<<<http://www.siap.sagarpa.gob.mx/mexsai/temas/34S.pdf>>> fecha de consulta:15/04/05

García de Lomas Juan. 2003. Virus del Oeste del Nilo (West Nile Virus): ¿Estamos preparados? Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina. Instituto Valenciano de Microbiología. Valencia.

<<<http://www.aev.es/aev/pdf/temaEne2003.pdf>>> fecha de consulta:10/04/05

Gubler DJ, Campbell GL, Nasci R, Komar N, Petersen L, Roehrig JT. 2000. West Nile virus in the United States: guidelines for detection, prevention, and control. Division of Vector-Borne Infectious Diseases, National Center for Infectious Diseases. *Viral Immunol.* 13(4):469-75.

<<<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/resources/wnvguidelines2003.pdf>>> fecha de consulta:22/04/05

Hubalek Z, Halouzka J. 1999. West Nile Fever- a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Disease.* 5(5): 643-50.

Hunt AR, Hall RA, Kerst AJ, Nasci RS, Savage HM, Panella NA, Gottfried KL, Burkhalter KL, Roehring JT. 2002. Detection of West Nile Virus antigen in mosquitoes and Avian tissues by a Monoclonal antibody-based capture Enzyme Immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology.* 40 (6):2023-2030

Huang Cinnia, Brett Slater, Rudd Robert, Nandakishore Parchuri, Hull Rene, Dupuis Michelle, Hindenburg Alexander. 2002. First Isolation of *West Nile virus* from a Patient with Encephalitis in the United States. Wadsworth Center, New York State Department of Health, Albany, New York, USA; Winthrop University Hospital, Mineola, New York, USA. *Emerging Infectious Diseases.* 8(12):1367-1369

Jean Smith. 2003. Virus del Nilo Occidental y Caballos. Central Washington Animal Agriculture Team cooperative extensión Washington State University.

<<[http://www.bfhd.wa.gov/forms/brochures/wnv\\_horse\\_sp04.pdf](http://www.bfhd.wa.gov/forms/brochures/wnv_horse_sp04.pdf)>> fecha de consulta:16/04/05

Komar N.2000. West Nile Viral Encephalitis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 19(1): 166-176.

Lee FJE, Fearon M, Leber C, Dwinhg P, Myszak M, Cole B, Greene Pb, Artes S, McGeer A, D'Cunha C, Naus M. 2002. The Ontario West Nile Virus working Group. *Human*



Surveillance for West Nile Virus infection in Ontario in 2000. Canadian Medical Association Journal. 166(1): 29.

Lyle R. Petersen, John T. Roehrig. 2002. Encefalitis por virus del Oeste del Nilo. Instituto Nacional de Salud Pública México. Biomed Vol.12 (3):208-216.

<<<http://bvs.insp.mx/componen/svirtual/calidad/calidad1.asp?idart=1011&seccion=Vectores>>> fecha de consulta: 21/04/05

Lyle R. Petersen John T. Roehrig. 2001. West Nile Virus: A Reemerging Global Pathogen. Centers for Disease Control and Prevention, Fort Collins, USA. *Emerging Infectious Diseases*. 7(4):611-614 <<<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol7no4/pdfs/petersen.pdf>>> fecha de consulta:22/04/05

Malkinson M, Banet C, Weisman Y, Pokamunski S, King R, Drouet MT, Deubel V. 2002. Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 392-7.

Méndez Galván Jorge, Romero Zamora Lucina, Flores León Rita, Álvarez Lucas Carlos, Cruz Rodríguez José, Meléndez Herrada Alejandro, Méndez Ochoa Marco Antonio. 2003. Guía para la Vigilancia, Prevención y Control del Virus del Oeste del Nilo. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Alimentación (SAGARPA). Comisión México-Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y Otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA) Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (UAM)

Monath T.P. (Ed.). The Arboviruses: Epidemiology and Ecology. Boca Ratón. CRC Press, 1988 <<<http://ciesin.columbia.edu/docs/001-378/001-378.html>>> fecha de consulta:23/04/05

Monath T.P. arthropod-borne encephalitis in the Americas. *Bull. W.H.O.* 53:513-533, 1979

Morejón García Moisés, Salup Díaz Rosa. 2003. Panorama Infeccioso Mundial. Electrón J Biomed. 1(3):153-60 <<<http://biomed.uninet.edu/2003/n3/morejon.html>. >> fecha de consulta:20/04/05

OPS. 2000. Organización panamericana de la salud. El Virus del Nilo Occidental en las Américas. <<[http://www.paho.org/Spanish/sha/be\\_v21n4-nilo.htm](http://www.paho.org/Spanish/sha/be_v21n4-nilo.htm)>> fecha de consulta:27/04/05

Pepperell C, Rau N, Kraiden S, Kern R, Humar A, Mederski B, Simor A, Low DE, McGeer A, Mazzulli T, Burton J, Jaigobin C, Fearon M, Artsob H, Drebot MA, Halliday W, Brunton J. 2003. West Nile Virus Infection in 2002 : Morbidity and Mortality among patients admitted to hospital in south-central Ontario. Canadian Medical Association Journal 168(11): 1399-1405.

Pletnev AG. et al. 2002. West Nile virus/dengue type 4 virus chimeras that are reduced in neurovirulence and peripheral virulence without loss of immunogenicity or protective efficacy. Proceeding of the National Academy of Sciences 2002; 99: 3036-41.

Rey Jorge, Rutledge Roxanne. 2001. Riesgo y Prevención del Virus del Nilo Occidental en Caballos en Florida. University of Florida Extension, Institute of Food and Agricultural Sciences. <<<http://edis.ifas.ufl.edu/IN188>>>

Rey Jorge, Rutledge, Roxanne, Jonathan F. Day, Walter J. Tabachnick. 2001. El Virus del Nilo Occidental. University of Florida Extension, Institute of Food and Agricultural Sciences. <<<http://edis.ifas.ufl.edu/IN188>>> fecha de consulta: 26/04/05

Rey Jorge, Rutledge Roxanne. 2004. La Vigilancia de los Viruses Acarreados por Mosquitos. University of Florida Extensión IFAS. <<<http://edis.ifas.ufl.edu/IN504>>> fecha de consulta:25/04/05

Roy H. 2002. El Virus del Nilo Occidental. May Asociación Ornitológica de Costa Rica (AOOCR). Boletín Zeledonia. <<<http://www.zeledonia.org/files/boletin7b/nilo.html>>> fecha de consulta: 22/04/05

SAGARPA. 2003. Virus del Oeste del Nilo. Programa de Acción para la Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector de México, Secretaría de Salud de México. <<<http://www.cenave.gob.mx/von/default.asp?id=24>>> fecha de consulta: 25/04/05

SAGARPA. 2004. <<<http://www.cenave.gob.mx/von/default.asp>>> fecha de consulta: 17/04/05

SAGARPA, SENASICA, Dirección General de Salud Animal. 2004. Manual para la toma de Muestras Virus del Oeste del Nilo en Equinos.

<<<http://www.cenave.gob.mx/von/archivos/Manualequinos.pdf>>> fecha de consulta: 15/04/05

Salazar Hernández Mariela. 2003. Universidad Nacional Autónoma de México.

<<<http://www.cuautitlan2.unam.mx/comunidad/2003/num13/ucl.13.htm>>> fecha de consulta: 11/04/05

Salim Máttar. 2003. Reporte Preliminar de Investigación sobre el Virus del Oeste del Nilo. Universidad de Córdoba. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Universidad de Córdoba Montería, Córdoba Colombia. email=smattar@escarsa.net.co

Saville WJ, Sofaly CD, Toribio RE. 2003. West Nile Virus encephalitis in horses. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 25(3):220-227

Shieh WJ, Guarner J, Layton M, Fine Annie, Miller J, Nash D, Campbell GL, Roehring JT, Gluber DJ, Zaki SR. 2000. The Role of Pathology in an investigation of an Outbreak of West Nile Encephalitis in New York, 1999. Emerging Infectious Disease. 6(4): 1-2



Shimoni Z, Niven MJ, Pitlick S, Bulvik S. 2001. Treatment of West Nile virus encephalitis with intravenous immunoglobulin. *Emerg Infect Dis.* 7: 759.

Shope R.E. 1980. Arbovirus-Related encephalitis. *Yale Biol. Med.* 53:93-99.

<<[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=6769260&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=6769260&dopt=Abstract)>> fecha de consulta: 26/04/05

Steele K, Linn MJ, Schoepp RJ, Komar, Geisbert TW, Manduca RM, Calle PP, Taphel BL, Panella NA, Mc Namara TS. 2000. Pathology of fatal West Nile Virus Infections in Native and Exotic Birds during the 1999 Outbreak in New York City, New York. *Vet Pathol.* 37: 208-224

Tyler KL. 2001. West Nile Virus Encephalitis in America. *The New England Journal of Medicine.* 344(24): 1858-1859.

Valdés García Luis Enrique. 2004. Pobreza y Enfermedades Emergentes y Reemergentes. Instituto Superior de Ciencias Médicas. <<<http://www.cenave.gob.mx/von/default.asp>>> fecha de consulta: 14/04/05

Vargas R, Cárdenas LJ, Mateos PA, Montañó HJA. 2002. La Enfermedad del Oeste del Nilo: Imagen Veterinaria UNAM 2:5-6.

Vargas Romero S, García Navarro V, Gonzáles cornejo S, Ruiz Sandoval JI. 2004. West Nile Virus un Diferencial Obligado en Neurología. *Rev. Méx. Neuroci.* 5(2); 137-140. <<<http://www.neurologia.com.mx/PDFs/REVISTA5-2/Nm0042-08.pdf>>> fecha de consulta: 05/04/05

Zarate Aquino Maria Luisa, Morilla Gonzáles Antonio, Batalla Campero Diodoro. 1999. *Encefalitis Equinas por Arbovirus. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Sagar México D.F.*