



Universidad
Nacional
de Córdoba



Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Tesina de Grado para optar por el título de Bióloga

**Actividad estacional de los virus
Saint Louis encephalitis y West Nile en la comunidad
de aves silvestres en un parche de Espinal, Córdoba**

Tesinista: SEILER, Erina Noé Firma:

Director: SPINSANTI, Lorena Firma:

Co-Director: DÍAZ, Adrián Firma:

Fecha: de Marzo de 2019

Instituto de Virología Dr. José María Vanella
Facultad de Ciencias Médicas - UNC



**Actividad estacional de los virus
Saint Louis encephalitis y West Nile en la comunidad
de aves silvestres en un parche de Espinal, Córdoba**

Tribunal Examinador

Apellido y Nombre: ALMIRÓN, Walter Ricardo

Firma:

Apellido y Nombre: PELUC, Susana

Firma:

Apellido y Nombre: RIVAROLA, Elisa

Firma:

Calificación:

Fecha:

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
<i>Flavivirus</i>	4
Virus Saint Louis Encephalitis.....	7
Virus West Nile.....	9
Diagnóstico etiológico.....	12
Planteo del problema.....	12
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos	13
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Área de estudio.....	13
Captura de aves	14
Detección de anticuerpos neutralizantes	15
Análisis estadístico	16
RESULTADOS	19
Relación entre Presencia/Ausencia de anticuerpos con estación, especie y período de actividad viral. 24	
Relación entre seroprevalencia del SLEV con estación, período de actividad viral y NDVI.....	25
Relación entre presencia/ausencia de Ac NT para SLEV con estación, período de actividad viral y NDVI.	27
DISCUSIÓN	28
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXO	43

RESUMEN

Los virus Saint Louis encephalitis (SLEV) y West Nile (WNV) son arbovirus que se mantienen a través de la transmisión biológica vectorial entre artrópodos y vertebrados. La red de transmisión estaría integrada por mosquitos del género *Culex* como vectores y aves Passeriformes y Columbiformes como hospedadores. Estudios previos demuestran que un amplio número de especies de aves silvestres se encuentran expuestas a estos virus en las provincias de Chaco, Tucumán y Córdoba (Argentina). El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad temporal de los virus SLE y WN en comunidades de aves residentes y migratorias en un foco de transmisión enzoótico, en la localidad de La Para, Provincia de Córdoba. Las aves fueron capturadas, determinadas taxonómicamente y se obtuvo una muestra de sangre para la detección de anticuerpos neutralizantes (Ac NT) para SLEV y WNV. Se analizaron 860 muestras durante dos períodos de actividad (primavera-verano-otoño) correspondientes a los años 2013 y 2014. Con el objetivo de determinar el efecto de la estación, especie aviar y período de actividad viral sobre la presencia/ausencia de anticuerpos en aves para los virus SLE y WN, se construyeron Modelos Lineales Generalizados y se realizó la selección de los mismos en base al criterio de Información de Akaike (AIC). Se utilizaron imágenes satelitales a fin de obtener los valores medios y máximos de NDVI (Índice de vegetación de diferencia normalizada) con el propósito de analizar el posible efecto de esta variable ambiental sobre la actividad viral. El modelo que mejor explicó la presencia/ausencia de anticuerpos para SLEV fue el de *estación*, pero ninguna de las variables analizadas logró explicar la presencia/ausencia de Ac NT para WNV. No se observó un efecto de los valores de NDVI sobre la presencia/ausencia de Ac NT ni sobre la seroprevalencia por estación para SLEV. El análisis serológico realizado durante este trabajo permitió detectar la actividad enzoótica y endémica para ambos virus en un parche de espinal, confirmando hallazgos de trabajos anteriores. Sin embargo, se observa una disminución de los valores de seroprevalencia para ambos virus comparando períodos previos. El SLEV presentó un pico de actividad durante el otoño de cada período. En cuanto al WNV, se observaron dos picos de actividad en el segundo período estudiado: en primavera y en otoño. La alta y constante seroprevalencia para el SLEV en *Columbina picui*, confirma el rol de esta especie como amplificador de este virus en este ecosistema. Las variaciones estacionales observadas podrían ser el resultado de las variaciones poblacionales típicas de los mosquitos vectores. Las diferencias observadas en el grado de exposición de las especies aviares a estos virus podría indicar la utilización de distintos mosquitos vectores por parte de estos. Este trabajo realiza un nuevo aporte al conocimiento sobre la temporalidad de los virus SLE y WNV y las especies aviares potencialmente implicadas en las redes de transmisión del sitio analizado.

INTRODUCCIÓN

La expansión geográfica de las poblaciones humanas, la intensificación de la agricultura y la alteración de los hábitats debido al cambio climático o la deforestación, han facilitado la emergencia de patógenos (Taylor et al., 2001; Jones et al., 2008). Muchos de ellos afectan a humanos y son agentes zoonóticos mantenidos en ciclos enzoóticos por animales silvestres o domésticos (Lloyd-Smith et al., 2009).

Muchas de las zoonosis emergentes que ocurren a nivel mundial son ocasionadas por arbovirus, virus transmitidos vectorialmente por artrópodos hematófagos y que no se encuentran relacionados evolutivamente. Se estima que la riqueza de este grupo está representada por 1500 virus aproximadamente con importancia sanitaria (Tabachnick, 2016).

Los arbovirus se mantienen a través de la transmisión biológica vectorial entre artrópodos (mosquitos, garrapatas, flebotomos, jejenes, etc.) y vertebrados durante su ciclo de vida (Kuno & Chang, 2005). Los hospedadores pueden representar diferentes especies de aves y mamíferos. A su vez, para ciertos virus, los humanos pueden actuar como hospedadores terminales (ejemplo: virus Saint Louis encephalitis [SLEV], West Nile [WNV], Japanese encephalitis [JEV], Eastern equine encephalitis [EEV], Western equine encephalitis [WEEV], Venezuelan equine encephalitis [VEEV], Usutu [USUV]) lo cual significa que las viremias no son lo suficientemente elevadas para infectar al artrópodo vector. Por lo tanto, estos hospedadores no son necesarios para el mantenimiento del virus y representan un accidente durante la transmisión biológica entre vectores y hospedadores. No hay ejemplos confirmados de antroponosis, es decir, arbovirus que sean transmitidos de humanos a animales (Kuno & Chang, 2005; Weaver & Reisen, 2010). Los hospedadores infectados pueden sufrir enfermedades desde subclínicas o leves hasta encefalitis, poliartritis o hemorragias, con un número significativo de muertes. En contraste, los artrópodos no muestran signos detectables de enfermedad, a pesar de que el virus puede permanecer en el artrópodo de por vida (Liang et al., 2015).

Para que la transmisión vectorial del virus sea exitosa, deben ocurrir varios eventos (Figura 1): primero, el vector debe ingerir una cantidad mínima infectiva de virus contenida en la comida sanguínea (*umbral mínimo de infección*); una vez en el interior, el virus debe infectar las células del epitelio intestinal, replicar en ellas y escapar hacia el hemocele atravesando la lámina basal del intestino medio. Cuando alcanza el hemocele, se dispersa hacia todos los órganos del vector a través de la hemolinfa. Por último, para poder ser transmitido en las siguientes alimentaciones

sanguíneas, el virus debe ser capaz de infectar las células que conforman las glándulas salivales del mosquito. Una vez en el interior de las glándulas, debe replicar en ellas y ser liberado a través de la saliva hacia el hospedador vertebrado durante la próxima comida sanguínea. Este período durante el cual el virus ingresa e infecta al artrópodo vector y es transmitido a través de la picadura vía saliva se denomina *Período de incubación extrínseco (PIE)* y está altamente influenciado de manera inversamente proporcional por la temperatura ambiente (Black et al., 2002).

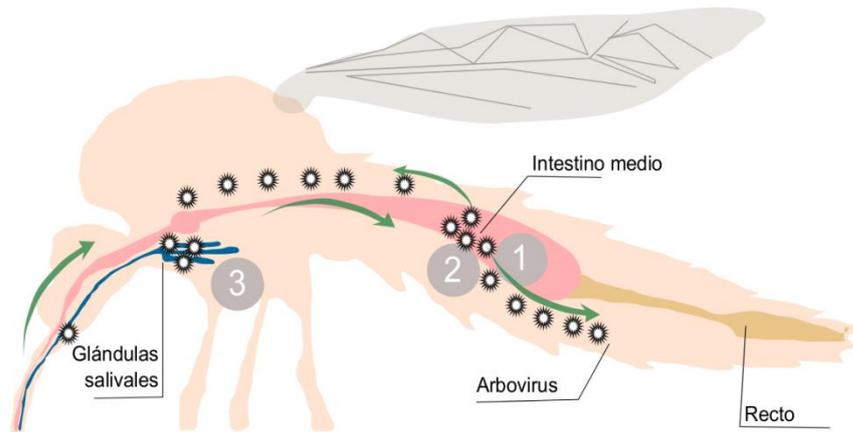


Figura 1: Representación esquemática del proceso de infección de un arbovirus en un mosquito vector hipotético. 1- barrera de infección del intestino; 2- barrera de escape del intestino; 3- infección en las glándulas salivales (Obtenido de: Contigiani et al., 2016).

Como factores responsables de la emergencia de arbovirus, se pueden mencionar: las actividades antrópicas que causan disturbios ambientales (Vasconcelos et al., 2001) y los cambios climáticos alterando las poblaciones de vectores y hospedadores (Weaver & Reisen, 2010; Anyamba et al., 2012), transporte de personas en aviones, migraciones y tráfico de animales (Pfeffer & Dobler, 2010) y mutaciones genéticas que causan spill-overs (Weaver & Barrett, 2004; Kuno & Chang, 2005). Debido a su naturaleza de virus ARN, los arbovirus poseen una alta adaptabilidad a nuevos hospedadores y vectores. Gracias a alteraciones en la especificidad del receptor, en la eficiencia de transmisión, antigenicidad y condiciones ecológicas y ambientales, los arbovirus se adaptan fácilmente a nuevos hospedadores/vectores (Liang et al., 2015).

Los arbovirus de reciente emergencia en nuestra región incluyen al virus Dengue, Yellow fever, Heartland, SLEV, WNV, EEEV, VEEV, Zika (ZIKV), Mayaro (MAYV) y Chikungunya (CHIKV) (Aviles et al., 1999; Morales et al., 2006; Spinsanti et al., 2008; Carrera et al., 2013; Vittor et al.,

2016; Doughty et al., 2017; de Acevedo Fernandes et al., 2017; Hotez & Murray, 2017) y el virus Bunyamwera (Tauro et al., 2015).

Cuando un ambiente posee todas las condiciones biológicas necesarias para albergar la transmisión estable de un arbovirus se genera un “foco de actividad” (Komar, 2001). El tamaño de este foco de actividad varía de acuerdo a la biología de sus vectores y hospedadores. Por ejemplo, los vectores suelen tener rangos de dispersión limitados al igual que roedores y otros mamíferos territoriales, es el caso de los virus Mayaro, UNA y VEE (Powers et al., 2006). Mientras que otros arbovirus que utilizan aves como hospedadores pueden tener rangos de actividad y de dispersión mayores (SLEV, USUV, WNV, Buggy Creek) (Brown et al., 2008; Díaz et al., 2008; Engel et al., 2016).

Estudiar las características biológicas y la dinámica temporal de los focos de transmisión de los arbovirus es fundamental para comprender sus tendencias de actividad, generar inferencia sobre los potenciales vectores y hospedadores, las interacciones entre ellos y evaluar el riesgo de emergencia frente a determinadas causas (Brown et al., 2007).

Flavivirus

El género *Flavivirus* alberga aproximadamente 53 especies virales, la mayoría de las cuales son patógenos humanos transmitidos por mosquitos (27 especies), por garrapatas (12 especies) y 14 son agentes zoonóticos sin un vector conocido. El 65% de los virus transmitidos por mosquitos causan enfermedad en humanos. Todos los miembros del género *Flavivirus* comparten sitios antigénicos, lo cual lleva a una amplia reactividad cruzada de los anticuerpos, que se exacerba en las infecciones secuenciales, dificultando el diagnóstico. Esto ocurre especialmente en regiones donde dos o más flavivirus son prevalentes. Utilizando la prueba de Neutralización se pueden distinguir los virus individuales del género y definir subtipos de virus muy relacionados. Mediante el estudio de los cruces serológicos obtenidos por esta técnica, los flavivirus se clasificaron en ocho complejos antigénicos: Tick-borne encephalitis, Tyuleni, Japanese encephalitis (JE), Ntaya, Uganda S, Dengue, Río Bravo y Modoc (Calisher et al., 1989). Este esquema de clasificación basado en estos criterios ha sido muy útil para el conocimiento de los flavivirus, pero se ha visto que muchos de estos virus se asignaron incorrectamente dentro de dicho esquema. La secuenciación molecular y reconstrucción filogenética han permitido superar estos inconvenientes y aportaron importantes conocimientos en relación a la taxonomía

y dispersión de los flavivirus. En la actualidad se sigue la taxonomía y nomenclatura recomendada por el Comité Internacional en la Taxonomía de Virus (traducción del inglés: *International Committee on Taxonomy of Viruses*, ICTV), cuya clasificación está basada en el concepto de especie viral que considera: la morfología, organización genómica, relaciones en las secuencias de nucleótidos, características antigénicas y ecológicas y asociaciones al vector, hospedador y enfermedad que producen (Gubler et al., 2007).

Los flavivirus son virus pequeños (37-50nm), envueltos y con una molécula de ARN contenida dentro de una cápside icosaédrica compuesta por tres proteínas estructurales: una nucleocápside o proteína del core (C), una proteína de la membrana no glicosilada (M) y una proteína de la envoltura (E) frecuentemente glicosilada (Figura 2). La proteína estructural M está presente en la envoltura del virión maduro y proviene de la ruptura, mediada por una furina, de la proteína prM en el retículo endoplásmico de la célula hospedadora. La proteína E es el mayor componente del virión, define la especificidad tipo viral y contiene determinantes antigénicos que inducen la respuesta de anticuerpos inhibidores de la Hemoaglutinación (AcIH) y Neutralizantes (AcNT), es decir, la respuesta inmunológica del hospedador (Burke & Monath, 2001). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la prM y la proteína NS1 también serían importantes blancos de la respuesta de Ac NT (Campos et al., 2018).

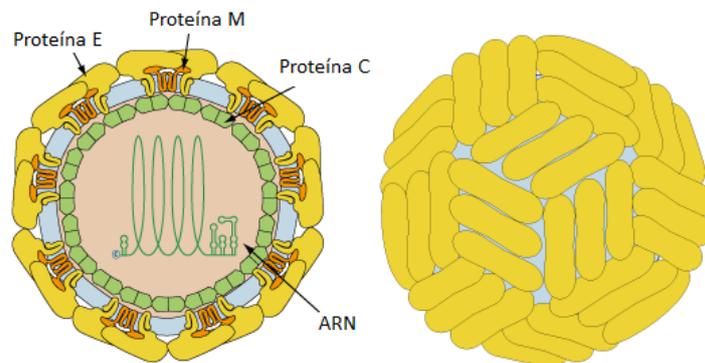


Figura 2: Representación esquemática de la estructura del virión de *Flavivirus*. Izquierda: se muestra la envoltura compuesta por la proteína de la envoltura (E) y la proteína de membrana (M) y la nucleocápside compuesta por la proteína C y el ARN. Derecha: estructura icosaédrica de la nucleocápside (Obtenido de Viral Zone: https://viralzone.expasy.org/24?outline=all_by_species).

Los flavivirus producen efecto citopático (ecp) y formación de placas en una variedad de cultivos celulares primarios y continuos derivados de mono, humanos, roedores, cerdo y tejidos aviáres. A temperaturas elevadas los flavivirus son inactivados rápidamente. Las bajas temperaturas preservan la infectividad y es la forma de conservarlos (-86 °C). También se inactivan por luz UV y desinfectantes (formaldehído, glutaraldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, alcohol, yodo) (Burke & Monath, 2001).

Su genoma es ARN simple cadena de polaridad positiva de aproximadamente 11kb de longitud. Su organización comprende un marco de lectura abierta (ORF), que representa la mayor parte de la molécula y dos regiones no codificantes localizadas en las extremidades 5' amino-terminal y 3' carboxi-terminal de la cadena nucleotídica. El ORF codifica para una poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos que por procesamiento proteolítico da origen a los péptidos individuales. La misma contiene 3 proteínas estructurales y 7 proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5) (Figura 3). La región no codificable 5' es conservada dentro de los miembros de serocomplejos antigénicos específicos. El extremo 3' carece del tracto poli-A, y contiene varias secuencias conservadas específicas de los virus transmitidos por mosquitos (Burke & Monath, 2001).

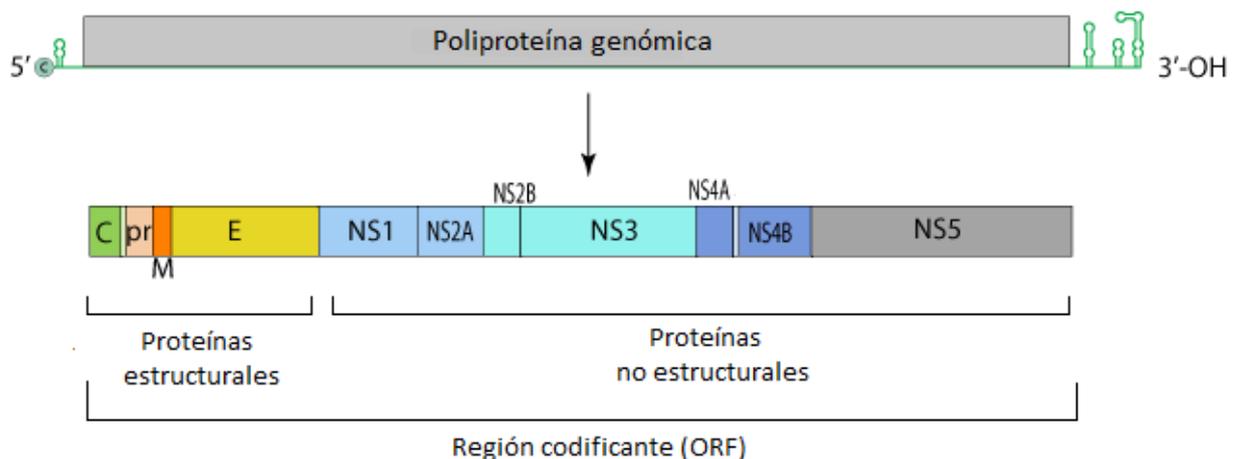


Figura 3: Organización del genoma de flavivirus. Se muestran las proteínas estructurales (C, M, E) y no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) de la región codificante (ORF) (Obtenido de Viral Zone: https://viralzone.expasy.org/24?outline=all_by_species).

Virus Saint Louis Encephalitis

Fue aislado por primera vez de un paciente en el año 1933, durante un brote de encefalitis en Saint Louis, Estados Unidos (Lumsden, 1958). Este virus se mantiene en la naturaleza por redes de transmisión y mantenimiento que van cambiando de acuerdo a la ubicación geográfica (Reisen et al., 2003). El hombre y los mamíferos domésticos son excluidos de la red básica de transmisión dado que los títulos de viremia son insuficientes para infectar los mosquitos vectores. El SLEV está ampliamente distribuido en América, se ha detectado y aislado de mosquitos, aves y mamíferos desde el sur de Canadá hasta Argentina (Reisen et al., 2003). Las cepas se agrupan en 8 genotipos diferentes (I-VIII) siendo los genotipos I y II prevalentes en Estados Unidos y el genotipo V ampliamente distribuido en Sudamérica, mientras que el resto de los genotipos tienen distribución limitada: IV limitado a Colombia y Panamá, VI en Panamá, VII en Argentina, y finalmente el VIII únicamente en la zona del Amazonas en Brasil. (Rodrigues et al., 2010).

Numerosos estudios serológicos y virológicos han dado evidencia de la actividad del SLEV en la Argentina (Sabattini et al., 1998). En 1963 se aislaron dos cepas humanas (cepas Bel y Vil) a partir de suero agudo de dos pacientes con enfermedad febril. Los pacientes provenían de dos lugares separados por 50km de distancia, Chacabuco y Salto, provincia de Buenos Aires. En 1966 se aislaron dos cepas de roedores colectados en la Provincia de Córdoba: la cepa CbaAn-9124 de la orina de un *Calomys* sp. y la cepa CbaAn-9275 (genotipo VII) de un pool de cerebro-bazo de un juvenil de *Mus musculus* (Sabattini, 1969). Años después, otras cepas fueron recuperadas de mosquitos, entre ellas la cepa 78V-6507 (Santa Fe, genotipo V) (Mitchell et al., 1985; Daffner et al., 1987) y CbaAr4005 (Córdoba, genotipo III) (Díaz et al., 2006).

En décadas pasadas varios casos clínicos de encefalitis por SLEV fueron diagnosticados serológicamente (Sabattini et al., 1998). En el año 2002, luego de 17 años sin notificaciones, se reportó el primer caso clínico de infección con SLEV en Córdoba (Spinsanti et al., 2003) sin casos humanos adicionales notificados en aquel momento. Desde entonces, este virus experimenta una re-emergencia como patógeno humano en nuestro país. En el verano-otoño de 2005, en la provincia de Córdoba, se registró la primer epidemia de encefalitis por este virus en Sudamérica (Spinsanti et al., 2008). En los años posteriores se registraron casos aislados y brotes de diferente magnitud en Córdoba, San Juan y Buenos Aires (Vergara Cid, 2011; Fabbri et al., 2011;

Seijo et al., 2011). Durante el año 2016 hubo casos aislados en Buenos Aires, San Luis y Córdoba (Boletín Integrado de Vigilancia 2016).

Durante el presente año se registró en la provincia de San Luis un caso probable de encefalitis por SLE sin antecedente de viaje (Boletín Integrado de Vigilancia 2019).

En Argentina, SLEV nunca se aisló a partir de aves pero la evidencia serológica indica que son infectadas frecuentemente (Monath et al., 1985). En regiones templadas y subtropicales del país se detectaron anticuerpos neutralizantes en un amplio rango de aves pertenecientes a diversas familias (Furnariidae, Columbidae, Tyrannidae, Fringilidae, Icteridae, Ardeidae y Cotingidae) (Monath et al., 1985; Díaz et al., 2016).

Este virus es considerado un multi/hospedador, multi/vector (como WNV, JEV, EEEV, WEEV, VEEV), es decir, que se mantiene en la naturaleza por más de una especie de hospedador y vector. Por lo tanto, las dinámicas de mantenimiento están más relacionadas a una red de transmisión que a un ciclo (Díaz et al., 2013).

En América del Norte es transmitido por mosquitos *Culex* y mantenido por hospedadores Passeriformes y Columbiformes. *Passer domesticus* (Gorrión) y *Haemorrhous mexicanus* (Pinzón mejicano) se consideran los principales amplificadores en sitios urbanos. La tórtola (*Zenaida macroura*) también contribuye como amplificador en regiones rurales (Reisen et al., 2003).

La red de transmisión biológica para el SLEV en nuestro país (Figura 4) estaría integrada por mosquitos *Culex quinquefasciatus*, *Cx. interfor* y *Cx. saltanensis* como los principales vectores y palomas Torcaza (*Zenaida auriculata*) y Torcacita (*Columbina picui*) como sus hospedadores urbanos (Batallán, 2013; Díaz et al., 2013; 2018; Beranek et al., 2019). Con respecto a estas especies de aves, se han realizado estudios de competencia de hospedador que indican su rol como principales amplificadores. Sin embargo, otras especies (*Passer domesticus*, *Patagioenas maculosa*, *Molothrus bonariensis* y *Agelaioides badius*) replican el virus con un título lo suficientemente elevado para infectar al mosquito vector *Cx. quinquefasciatus* (Díaz et al., 2018). El SLEV también fue encontrado en los mosquitos *Aedes aegypti*, *Ae. albifasciatus*, *Ae. scapularis*, *Anopheles albitarsis*, *Cx. apicinus* y *Psorophora ferox*, sin embargo, su rol como vectores eficientes es cuestionado (Díaz et al., 2012).

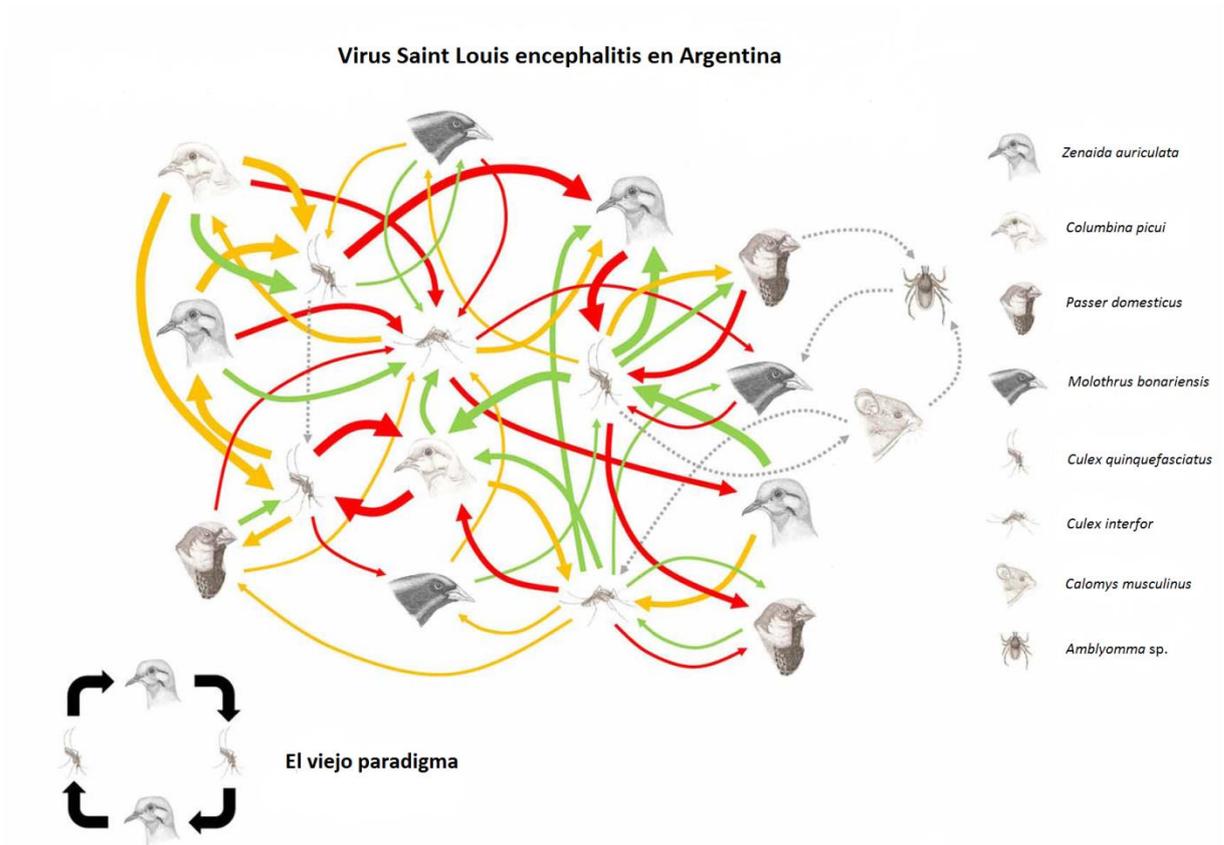


Figura 4: Red de mantenimiento hipotética para el SLEV en la región central de Argentina. El ancho de las flechas representa la intensidad del flujo viral entre un hospedador y vector. El color de las flechas representa la estación del año en la que la relación vector-hospedador se lleva a cabo (verde: primavera, rojo: verano, naranja: otoño). Las flechas discontinuas representan las vías de transmisión entre vectores (garrapatas) y hospedadores (roedores) alternativos. (Obtenido de Díaz et al., 2013).

Virus West Nile

El WNV fue aislado por primera vez en 1937 de la sangre de una mujer febril en el distrito de West Nile en Uganda (Smithburn et al., 1940). Se lo ha encontrado en África, Medio Oriente, parte de Europa, sur de Asia, Australia y América (Petersen & Roehrig, 2001; Campbell et al., 2002). En América se lo detectó por primera vez en el año 1999 en la ciudad de Nueva York durante un brote de encefalomiелitis en humanos, tras un verano húmedo y caluroso (Jia et al., 1999; Nash et al., 2001). La cepa de WNV de América del Norte fue identificada por primera vez en tejido cerebral de un cuervo muerto (*Corvus brachyrhynchos*) colectado en Septiembre de 1999 en Westchester, Nueva York. Posteriormente, se realizaron otros aislamientos a partir de cuervos y aves exóticas de una colección zoológica en Nueva York (Steele et al., 2000).

Al igual que el SLEV, se mantiene en la naturaleza a través de una red de transmisión biológica (Figura 5) en la que intervienen mosquitos *Culex* spp. como vectores y aves Passeriformes como hospedadores (Kilpatrick et al., 2005).

Se ha detectado actividad viral urbana y rural en todo Estados Unidos (Komar et al., 2003). Las especies de mosquito que funcionan como vectores principales del WNV, varían según la distribución geográfica, por ejemplo, *Cx. pipiens* y *Cx. restuans* son los vectores primarios en el noreste y centro-norte de Estados Unidos (Kilpatrick et al., 2005), *Cx. quinquefasciatus* al sur y *Cx. tarsalis* al oeste de ese país (Reisen et al., 2004).

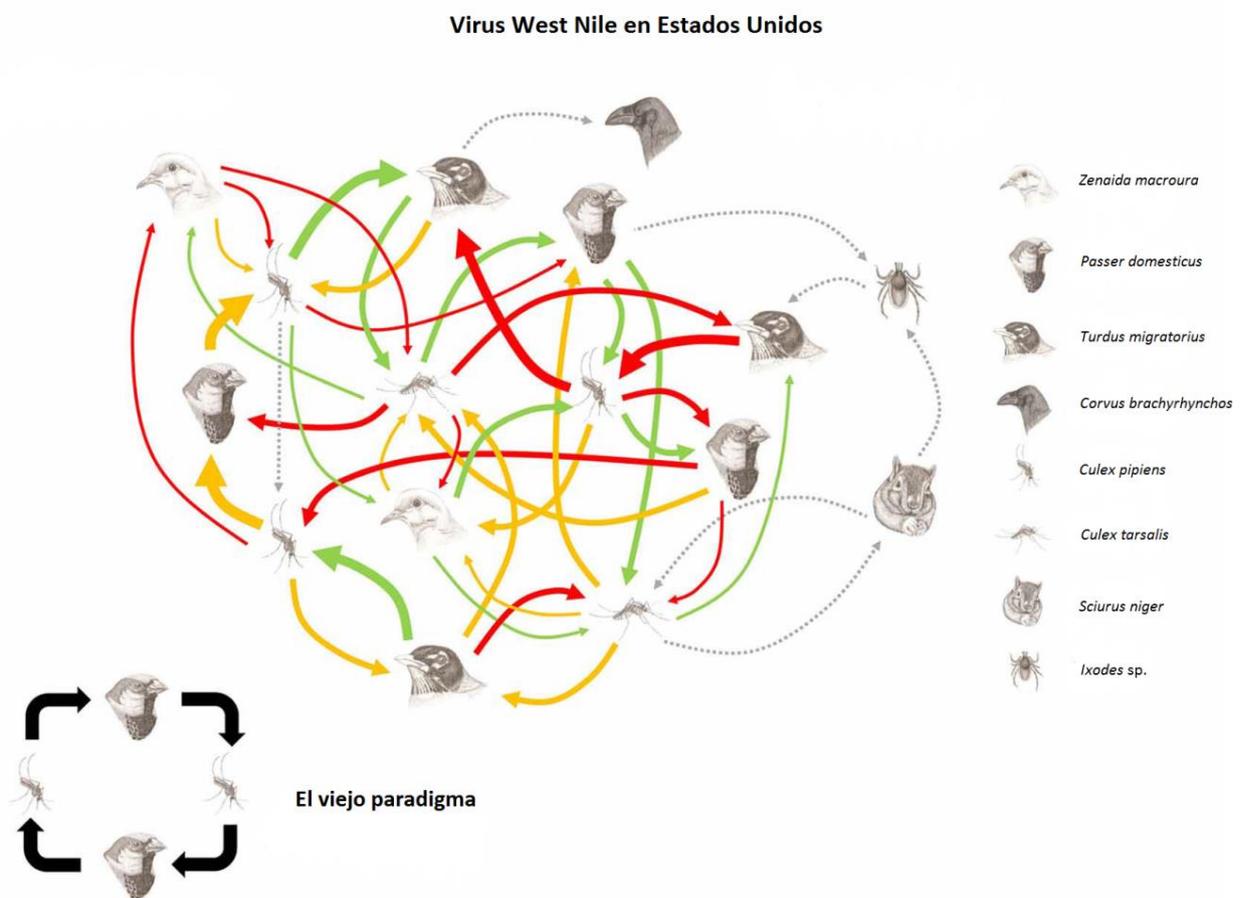


Figura 5: Red de transmisión hipotética para WNV en EE.UU. El ancho de las flechas representa la intensidad del flujo viral entre un hospedador y vector. El color de las flechas representa la estación del año en la que la relación vector-hospedador se lleva a cabo (verde: primavera, rojo: verano, naranja: otoño). Las flechas discontinuas representan las vías de transmisión entre vectores (garrapatas) y hospedadores (roedores) alternativos. (Obtenido de Díaz et al., 2013).

Para el 2004, estudios serológicos detectaron anticuerpos específicos contra WNV en aves y caballos en el Norte de Sudamérica (Colombia y Venezuela) (Morales-Betoulle et al., 2006; Bosch et al., 2007).

En Argentina se lo detectó por primera vez en el 2006 en caballos de la Provincia de Buenos Aires, de los cuales se aislaron 3 cepas. Éste es el primer reporte de WNV en el Cono Sur de Sudamérica (Morales et al., 2006). Sin embargo, en base a otras evidencias, el WNV se habría introducido en nuestro país a fines del 2004 según lo demuestra la detección de aves residentes infectadas en una variedad de ecosistemas: Córdoba (área periurbana), Mar Chiquita (bosque espinoso), Monte Alto (Bosque Chaqueño semiárido), Montecristo (campos de cultivos) y San Miguel de Tucumán (yungas periurbanas) (Díaz et al., 2008).

Desde entonces se mantuvo en focos enzoóticos donde estuvieron expuestas numerosas familias de aves. Se ha observado que las especies de la familia Furnariidae están frecuentemente expuestas a este virus (Díaz et al., 2008; 2016).

Culex quinquefasciatus actuaría como el principal vector y aves Passeriformes y Columbiformes como sus hospedadores (Díaz et al., 2016; Giayetto et al., 2018). Díaz et al. (2011) analizaron el rol potencial de tres especies de aves nativas como hospedadores amplificadores: Tordo Músico (*Agelaioides badius*), Paloma Torcacita (*Columbina picui*) y Tordo Renegrado (*Molothrus bonariensis*). Las palomas Torcacita (*C. picui*) desarrollaron las viremias de mayor duración y con títulos superiores al umbral mínimo de infección para mosquitos *Culex* spp. Estos resultados son similares a los obtenidos para el SLEV indicando que los dos virus podrían compartir similares hospedadores aviares en Argentina y poseer patrones ecoepidemiológicos similares.

Sabattini et al. (1998) y Díaz et al. (2018) señalaron previamente diferencias ecológicas en los hospedadores aviares para otros flavivirus (ejemplo SLEV) entre los EE.UU. y Argentina. Por lo tanto, no sorprende que el WNV tenga un perfil eco-epidemiológico diferente en Argentina que en los EE.UU. (Díaz et al., 2011).

Las notificaciones sobre enfermedad por WNV en humanos al igual que las epizootias en equinos son escasas, mostrando un comportamiento distinto al que posee en el hemisferio Norte.

Diagnóstico etiológico

La infección por estos flavivirus se confirma por la detección del virus o los anticuerpos específicos. No existe una técnica de diagnóstico ideal que cubra todos los aspectos a evaluar en estas infecciones, pero se cuenta con un importante número de metodologías directas e indirectas que usadas en forma complementaria permiten arribar a un diagnóstico de certeza. La correcta aplicación de las técnicas disponibles requiere que se conozcan la cinética de aparición de la viremia y los anticuerpos IgM e IgG en las infecciones por estos agentes. El diagnóstico de infección se realiza fundamentalmente por la detección de anticuerpos específicos en el suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) ya que los niveles de viremia son habitualmente muy bajos y de muy escasa duración. La Neutralización (NT) es la prueba “gold standard” para confirmar resultados obtenidos por técnicas de tamizaje menos específicas como el enzoinmunoensayo (ELISA). El diagnóstico etiológico definitivo es la demostración del aumento o la disminución de anticuerpos neutralizantes (dos o más títulos, seroconversión) entre dos muestras de suero pareadas (fase aguda y fase convaleciente de la infección). Si bien la técnica de NT es la más específica para esta familia viral, existe cierto grado de reactividad cruzada que obliga incluir en la confirmación el empleo de un panel de *Flavivirus* con actividad reconocida en la región. La existencia de reacciones serológicas cruzadas se presenta con mayor intensidad entre los agentes que pertenecen al mismo serocomplejo, y la diferenciación entre patrones de respuesta serológicas primarias y secundarias debe ser evaluada para una correcta interpretación de resultados. La respuesta primaria se detecta en individuos que no son inmunes a los flavivirus, mientras que la respuesta secundaria se observa en individuos con infecciones secuenciales por distintos flavivirus (Gubler et al., 2007).

Planteo del problema

La red de transmisión y mantenimiento es prácticamente desconocida para el WNV en nuestro país, mientras que para SLEV se han logrado importantes avances en el conocimiento de sus vectores y hospedadores.

Se ha demostrado que un amplio número de especies de aves silvestres se encuentran expuestas a estos virus en las provincias de Chaco, Tucumán y Córdoba. Sin embargo, son escasos los estudios enfocados en la temporalidad de estos virus.

Objetivo general

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad temporal de los virus SLE y WN en comunidades de aves residentes y migratorias en un foco de transmisión enzoótico de la región fitogeográfica del Espinal, ubicado en la localidad de La Para, al sudoeste de la Laguna Mar Chiquita, en el departamento Río Primero de la Provincia de Córdoba.

Objetivos específicos

- ❖ Detectar evidencia de circulación de los virus SLE y WN en poblaciones autóctonas de aves de vida libre en un parche de espinal.
- ❖ Estudiar la dinámica estacional de los virus SLE y WN en la población de *Columbina picui*, amplificador de ambos virus.
- ❖ Conocer la relación entre la seroprevalencia total para cada virus en la comunidad aviar y variables ambientales obtenidas a partir de imágenes satelitales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio se realizó al sudoeste de la Laguna Mar Chiquita, 8 km al noreste de la localidad de La Para (30° 50'S, 62° 54'W), departamento Río Primero, provincia de Córdoba (Figura 6). El sitio se encuentra en un relicto de bosque original rodeado por tierras de uso agrícola- ganadero. El bosque forma parte del distrito Chaqueño Occidental (Cabrera, 1976). No tiene una fisonomía boscosa homogénea, sino que presenta algunos sectores degradados por el pisoteo del ganado vacuno.

La Laguna Mar Chiquita es una depresión que cubre una superficie estimada de 6000 km². Es una cuenca endorreica alimentada por el Río Dulce desde el norte y por los ríos Suquía y Xanáes desde el sur (Vázquez, 1979). El terreno es llano y presenta leves ondulaciones que se anegan en épocas de lluvia, constituyendo sitios de cría de mosquitos.

Es importante resaltar que la fisonomía y composición de la vegetación han sufrido importantes modificaciones como resultado de la tala, el sobrepastoreo de ganado bovino y caprino, los incendios y la introducción de pasturas megatérmicas como *Panicum maximum*. En una superficie importante del área sólo se observan parches de bosques degradados, un dosel arbóreo muy abierto y un estrato herbáceo ralo reducido a pastos anuales (Cabido & Zak, 1999).



Figura 6: Ubicación del sitio de estudio

Captura de aves

Las aves silvestres se colectaron y sangraron estacionalmente durante dos períodos de actividad (primavera-verano-otoño) correspondientes a los años 2013 y 2014 (Tabla 1). Cada período comprende desde la primavera de un año hasta el otoño del año siguiente. Esto se debe a la biología de los arbovirus transmitidos por mosquitos en regiones templadas. Se utilizaron 6 redes de niebla distribuidas en un área de 1 ha aproximadamente (10000 m²) y se mantuvieron activas durante horarios matutinos y crepusculares. Fueron revisadas cada 30 min aproximadamente dependiendo de las condiciones climáticas. Las aves capturadas fueron determinadas taxonómicamente mediante la guía de Narosky e Yzurieta (2010) y se siguió la nomenclatura de Clements et al. (2018). Para el anillado se utilizaron anillos metálicos del Centro Nacional de Anillado de Aves (Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán). Los individuos colectados fueron trasladados en bolsas de tela desde las redes de niebla hasta el sitio de procesamiento. Se obtuvieron permisos de la Secretaría de Ambiente de la Provincia de Córdoba.

Tabla 1: Fechas de colecta de aves y su estación correspondiente

Fecha de captura	Estación	Fecha de captura	Estación
Marzo de 2013	Verano 1	Diciembre de 2013	
Mayo de 2013	Otoño 1	Febrero de 2014	Verano 2
Octubre de 2013	Primavera 2	Mayo de 2014	Otoño 2

De las aves capturadas, se obtuvo una muestra de sangre para la detección de anticuerpos neutralizantes (Ac NT). La toma de la muestra de sangre se realizó de la vena yugular o alar, extrayendo un volumen de sangre no mayor al 1% del peso corporal del individuo. Se tomó una muestra de 0,2 ml de sangre total a las aves con un peso superior a 20 gr, la cual se diluyó en 0,9 ml de diluyente (PBS). A las aves con un peso inferior a 20 gr se les tomó una muestra de 0,1 ml a la cual se adicionó 0,45 ml de diluyente. De esta manera, se obtuvo en ambos casos, una dilución al 10% del suero. Las muestras de aves fueron almacenadas a 4°C hasta ser procesadas en el laboratorio (Díaz et al., 2016).

Detección de anticuerpos neutralizantes

Para la detección de anticuerpos específicos para los virus SLE y WN se empleó la técnica de Neutralización de placas virales bajo agarosa en la línea celular continua de riñón de mono verde africano (VERO) según Early et al. (1967). Como semillas virales se emplearon cepas autóctonas de ambos virus. Para el SLEV se utilizó la cepa CbaAr-4005 aislada de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* durante el brote de encefalitis en la ciudad de Córdoba (Díaz et al., 2006) y para el WNV, la cepa E7229/06 aislada de caballos enfermos en la provincia de Buenos Aires (Morales et al., 2006). Con cada semilla se prepararon los stocks virales a partir de cerebro de ratón albino suizo lactante infectados al 10% P/V en MEM suplementado al 10% SFB y 1% de antibiótico. Posteriormente, dichos stocks fueron titulados con el fin de obtener la dilución que contenga aproximadamente 100 unidades formadoras de placas (ufp). Dicha dilución se utilizó para enfrentar a cada muestra serológica en la técnica de NT.

Los sueros fueron colocados en baño de agua a 56°C durante 30 minutos, para eliminar inhibidores inespecíficos, se centrifugaron a 11400 g durante 30 minutos para descontaminar y el sobrenadante se guardó a -20°C.

Brevemente, la detección de AcNT se realizó mezclando 0,1 ml de suero diluido 1/10 con 0,1 ml de una cantidad de virus fija que contenía 100 ufp/ml. Esta mezcla se incubó a 37°C durante 60 minutos para permitir la unión de los AcNT a las partículas virales (período de neutralización). Al finalizar este período, se inoculó 0,1 ml de la mezcla (virus-suero) en cada orificio de la placa que contenía una monocapa de células Vero y se la incubó durante 60 minutos a 37°C. Se agregó 0,5 ml de medio nutritivo con agarosa al 1% a cada orificio y se incubó la placa a 37°C. Las monocapas fueron examinadas a diario y las ufp se contaron al 5to. y 7mo. día para el virus WN

y SLE, respectivamente, días en los que ya no se forman nuevas ufp (Burke & Monath, 2001). Para ello, se fijaron las placas agregando formol al 10% durante dos horas, se coloreó con cristal violeta y se realizó el cálculo del número de placas residuales en cada uno de los sueros testeados. Se consideró positivo a todo aquel suero que neutralizó el 80% o más de las ufp incluidas en la prueba.

En el caso de aquellas muestras que tuvieron AcNT para ambos virus se procedió a la titulación de éstas para intentar determinar el agente causante de la infección viral. Se realizaron diluciones seriadas de cada suero problema, desde 1/20 hasta 1/640. Las diferentes diluciones de suero se enfrentaron a una cantidad fija de virus tal como se explicó en el párrafo anterior.

Análisis estadístico

Con el objetivo de determinar el efecto del período de actividad viral (período I y período II), la estación climática (primavera, verano y otoño) y especie aviar sobre la presencia/ausencia de anticuerpos en aves para los virus SLEV y WNV, se construyeron Modelos Lineales Generalizados (MLG; McCullagh & Nelder, 1989). Los MLGs permiten incluir variables con distribución diferente a la Normal; utilizan una función de enlace para establecer relaciones entre la media de la variable respuesta y requieren de información sobre la distribución de los errores de las variables respuesta.

Los modelos se construyeron empleando una distribución de errores de tipo Binomial con función de enlace *logit*. La variable respuesta fue de tipo binaria (1: presencia del virus; 0: ausencia del virus). Para cada virus, se realizó un modelo por cada variable explicativa (estación, período de actividad y especie) y un modelo considerando el conjunto de variables (estación + período de actividad + especie).

Para identificar aquellos modelos que mejor describieron la actividad del virus en las aves, se realizó una selección en base al criterio de Información de Akaike (AIC) y su cálculo corregido (AICc). El enfoque de la selección de modelos radica en las diferencias de AIC entre cada uno. Usualmente, todos los modelos son comparados con el de menor AIC, construyendo una tabla de diferencias de AIC. Burnham & Anderson (2004) proponen como regla general que todos los modelos dentro de las 2 unidades de AIC, con respecto al "mejor" modelo, tienen un nivel sustancial de soporte empírico.

Se evaluó el nivel de apoyo para cada modelo utilizando el valor $\Delta AICc$ y considerando modelos con valores $\Delta AICc < 2$ con respecto al modelo con menor AIC para tener evidencia substancial de ajuste (Burnham & Anderson, 2004). Se calculó el peso de Akaike (w_i) como medida del peso de la evidencia a favor del mejor modelo actual en el conjunto. Los valores w_i dependen del grupo de modelos seleccionados y en comparación conjunta. Por ejemplo, los w_i se interpretan como la probabilidad de que el modelo i es, de hecho y considerando los modelos con $\Delta AICc < 2$ que compiten como los de mejor ajuste a los datos, el mejor modelo dentro de los considerados. De esta forma, la suma de los valores de w_i del grupo de modelos comparados es igual a 1.

Una vez detectada la existencia de efecto de la estación del año sobre la actividad viral se realizó un análisis sobre el efecto de variables ambientales, tomando el índice de vegetación (NDVI) como una variable resumen, sobre dos variables respuestas diferentes: la presencia/ausencia de Ac NT y la seroprevalencia en aves silvestres. Estos modelos fueron realizados en relación al SLEV ya que no se detectó variabilidad estacional significativa para WNV.

Se utilizaron imágenes del sensor montado en el satélite Landsat 8, de acceso libre y gratuito. Las mismas se buscaron por coordenadas específicas en la plataforma online EOS-landviewer (<https://eos.com/landviewer>). Se eligieron imágenes libres de nubes conteniendo la escena de interés (path-row: 228-081 y 229-081), en fechas correspondientes a las de muestreo o próximas a éstas.

Las imágenes fueron descargadas en Google Earth Engine (<https://earthengine.google.com/>) utilizando scripts libres específicos para este proceso (Ver Anexo). Brevemente, se descargaron imágenes con el set completo de bandas, como así también las capas de NDVI calculadas automáticamente en base a las bandas 5 (infra rojo cercano: NIR) y 4 (rojo: Red) del sensor.

$$NDVI = \frac{NIR - Red}{NIR + Red}$$

Posteriormente, se utilizó el programa libre y gratuito QGIS (versión 2.18.20; <https://www.qgis.org/es/site/>) para la extracción de valores medios y máximos de NDVI en regiones de interés. Brevemente, se diseñaron vectores (áreas "buffer") con dos radios (500m y 5000m) alrededor de un punto central al parche de bosque en el cual se realizaron los

muestreos (Figura 7). El radio menor se tomó como representativo del parche de bosque nativo, mientras que el radio mayor abarca también una gran área de cultivos aledaños. Si bien los focos de transmisión de arbovirus suelen tener radios de actividad limitados principalmente por los mosquitos vectores, en el caso de los virus amplificados por aves, éstas poseen un rango de actividad mucho mayor. Es por esto que se consideró también el área de 5000m de radio, lo cual permite considerar el efecto que puede tener la variación de largo alcance y los movimientos de aves de la periferia al centro (efecto fuente/sumidero). La selección del tamaño del área buffer es importante a fin de identificar predictores de la distribución de las especies (Roiz et al., 2015). La escala óptima es la que brinda mayor información del paisaje. Una mayor escala, puede reflejar mejor los patrones relevantes de la variación del paisaje, que son importantes para la reproducción y alimentación de los mosquitos vectores (ejemplo: patrones relacionados al hospedador, a la vegetación, a la desecación) (Roiz et al., 2015). Luego se utilizaron estas áreas "buffer" para extraer los valores medios y máximos de NDVI de cada imagen, utilizando la herramienta *Zonal Statistics*. Estos valores, tomados para los diferentes radios de cobertura (500m y 5000m) fueron utilizados para confeccionar MLG a fin de analizar el posible efecto de los valores de NDVI sobre la variable respuesta (presencia/ausencia del virus; seroprevalencia).



Figura 7: Imagen satelital de la zona de estudio. Se incluyen dos zonas buffers alrededor del punto central del parche de bosque: zona roja (500m de radio) y zona azul (5000m de radio). Ésta última incluye el bosque y los campos aledaños.

RESULTADOS

Se sangraron un total de 936 aves silvestres y se analizaron 860 muestras pertenecientes a 78 especies (incluidas en 63 géneros, 23 familias y 9 órdenes). *Columbina picui* y *Elaenia parvirostris* fueron las especies más representadas en la colección de sueros analizados con un 21,5% (185/860) y 7,3% (63/860) del total de individuos analizados respectivamente (Anexo: Tabla 1). Con respecto al estatus de residencia, el 47,43% (37/78) correspondió a aves residentes permanentes.

Las especies seropositivas y las seroprevalencias obtenidas para ambos virus se pueden observar en la Tabla 1. Un total de 50 individuos pertenecientes a 21 especies fueron seropositivos para el SLEV. Las familias con mayor cantidad de especies seropositivas fueron Tyrannidae (5 especies), Furnariidae (4 especies) y Thraupidae (3 especies). En cuanto al WNV, 19 individuos pertenecientes a 13 especies resultaron seropositivos y las familias con mayor cantidad de especies seropositivas fueron Thraupidae (4 especies) y Furnariidae (2 especies). Del total de especies seropositivas, 8 lo fueron para ambos virus. Solamente dos individuos pertenecientes a dos de esas 8 especies, presentaron Ac NT para ambos virus: una Torcacita (*C. picui*) y un Chinchero grande (*Drymornis bridgesii*). La titulación de estos sueros en forma simultánea para cada uno de los virus demostró que los individuos podrían haberse infectado con ambos virus.

Tabla 1: Especies de aves seropositivas para SLEV y/o WNV y seroprevalencias obtenidas en un relicto de bosque al noreste de La Para en los años 2013 y 2014.

Orden, Familia, Especie	N° analizado	SLEV		WNV	
		N° pos.	Prevalencia (%)	N° pos.	Prevalencia (%)
COLUMBIFORMES					
Columbidae					
<i>Columbina picui</i>	185	22	11,89	3	1,62
<i>Leptotila verreauxi</i>	6	2	33,3	0	---
STRIGIFORMES					
Strigidae					
<i>Glaucidium brasilianum</i>	2	0	---	1	50
PASSERIFORMES					
Cotingidae					
<i>Phytotoma rutila</i>	54	4	7,4	0	---
Furnariidae					
<i>Drymornis bridgesii</i>	9	2	22,2	1	11,1
<i>Furnarius rufus</i>	22	1	4,54	0	---
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	12	1	8,33	0	---
<i>Tarphonomus certhioides</i>	9	1	11,1	2	22,2
Icteridae					
<i>Agelaioides badius</i>	20	1	5	2	10
Mimidae					
<i>Mimus saturninus</i>	4	1	25	0	---
Parulidae					
<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	18	0	---	1	5,55
Passerellidae					
<i>Zonotrichia capensis</i>	22	1	4,54	0	---
Thamnophilidae					
<i>Thamnophilus caerulescens</i>	3	1	33,3	1	33,3
Thraupidae					
<i>Coryphospingus cucullatus</i>	21	1	4,76	1	4,76
<i>Paroaria coronata</i>	18	0	---	1	5,55
<i>Pipraeidea bonariensis</i>	12	0	---	1	8,3
<i>Saltator aurantiirostris</i>	30	1	3,3	0	---
<i>Sicalis flaveola</i>	21	1	4,76	3	14,28
Troglodytidae					
<i>Troglodytes aedon</i>	14	1	7,14	1	7,14
Turdidae					
<i>Turdus amaurochalinus</i>	19	1	5,26	0	---
Tyrannidae					
<i>Elaenia albiceps</i>	54	1	1,85	0	---
<i>Elaenia parvirostris</i>	63	3	4,76	0	---
<i>Elaenia spp</i>	24	2	8,3	0	---
<i>Myiarchus tyrannulus</i>	1	0	---	1	100
<i>Pitangus sulphuratus</i>	15	1	6,67	0	---
<i>Stigmatura budytoides</i>	8	1	12,5	0	---

La seroprevalencia total durante el período 1 para el SLEV fue de 5,72% y para el WNV de 1,34%. Durante el período 2, el SLEV tuvo una seroprevalencia de 5,86% y el WNV de 2,66%.

Teniendo en cuenta las estaciones, SLEV presentó la mayor seroprevalencia (17,98%) en otoño (2014) del período 2 y la menor seroprevalencia en el verano del mismo año (2,64%). Con respecto al WNV, la mayor seroprevalencia se observó en primavera y otoño del período 2 (3,55% y 3,37% respectivamente) (Figura 8).

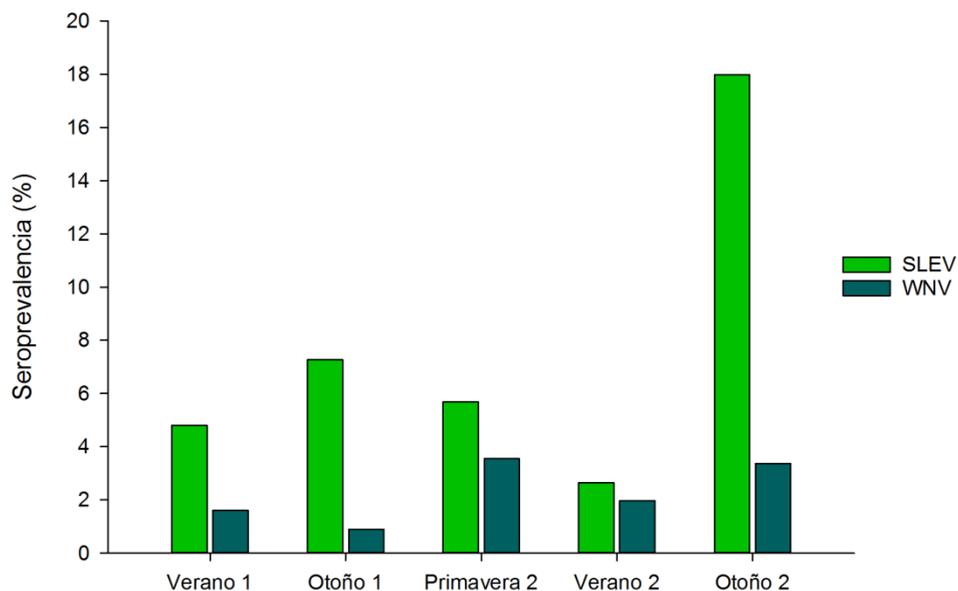


Figura 8: Distribución temporal de la prevalencia de Ac NT para SLEV y WNV durante las estaciones de los períodos analizados en un relicto de bosque al noreste de La Para en los años 2013 y 2014.

Para determinar las especies con mayores seroprevalencias, se consideraron aquellas con un número mínimo de 10 individuos analizados. Las especies más expuestas al SLEV fueron *C. picui* (11,89%; 22/185) y *Phytotoma rutila* (7,4%; 4/54). Mientras que las más expuestas al WNV fueron *Sicalis flaveola* (14,28%; 3/21) y *Agelaioides badius* (11,11%; 2/18) (Tabla 1).

Columbina picui presentó el mayor porcentaje de individuos seropositivos para SLEV pero mostró una prevalencia muy baja para WNV (1,62%; 3/185) (Tabla 1). En la Figura 9 se observa la distribución de las seroprevalencias generales para SLEV y las seroprevalencias halladas en *C. picui* para este virus.

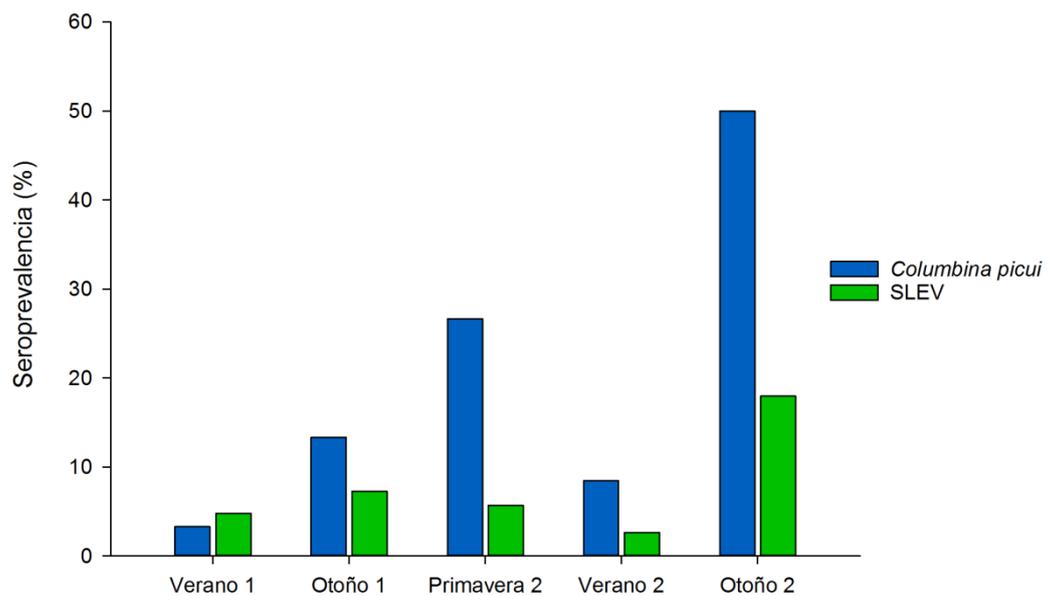


Figura 9: Distribución temporal de la prevalencia de Ac NT general para SLEV y en *Columbina picui* durante los períodos analizados en un relicto de bosque al noreste de La Para en los años 2013 y 2014.

La mayor riqueza de especies seropositivas para el SLEV se detectó en otoño del período 2 (12 especies) (Figura 10). En cuanto al WNV, la mayor riqueza se observó en primavera y verano del período 2 (6 especies infectadas en cada estación) y la menor en otoño del período 1 con una única especie infectada (Figura 11).

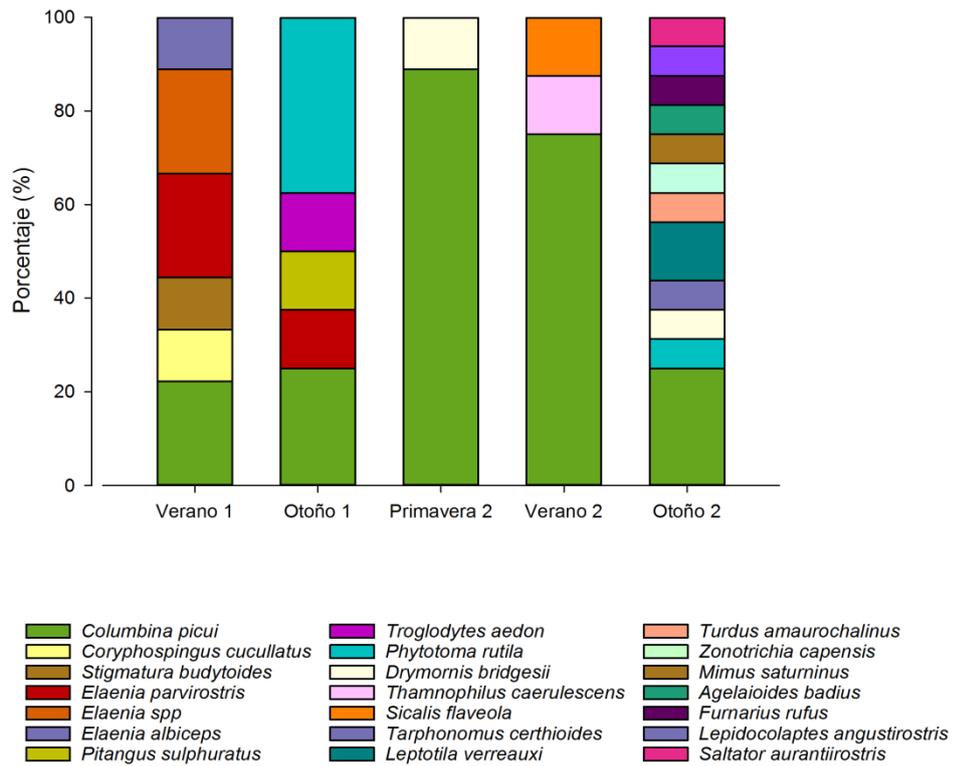


Figura 10: Variación estacional de la proporción de especies de aves infectadas por el SLEV en un relicto de bosque al noreste de La Para en los años 2013 y 2014.

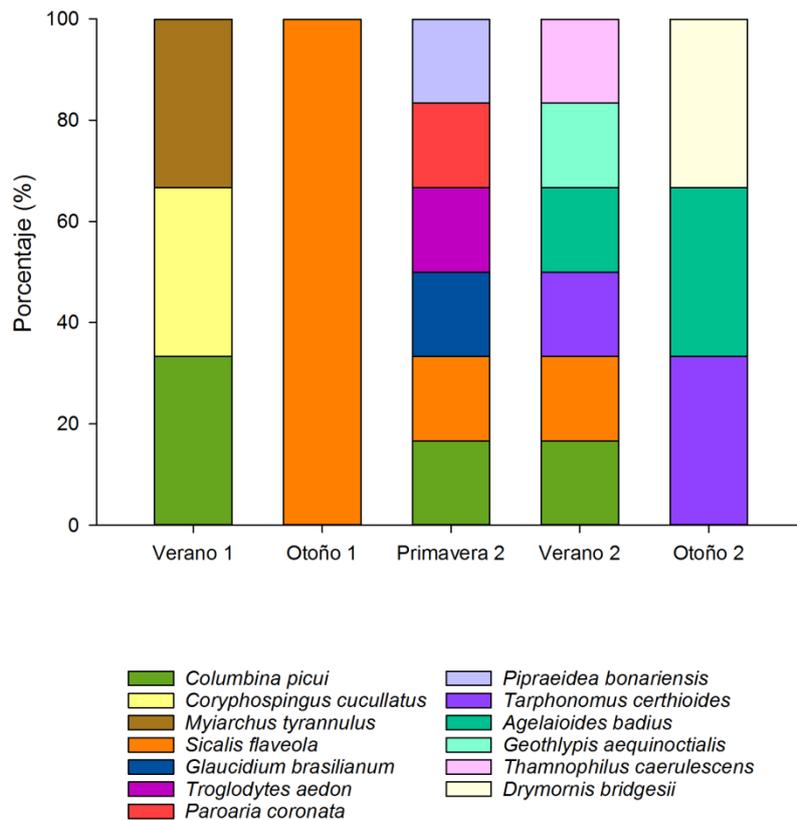


Figura 11: Variación estacional de la proporción de especies de aves infectadas por el WNV en un relicto de bosque al noreste de La Para en los años 2013 y 2014.

Relación entre Presencia/Ausencia de anticuerpos con estación, especie y período de actividad viral.

Con el objetivo de detectar asociaciones entre la presencia/ausencia de AcNT entre estaciones climáticas, especies y período de actividad viral, se aplicaron MLGs. De acuerdo al Criterio de Información de Akaike, el modelo que mejor explicó la presencia/ausencia de anticuerpos para SLEV en términos de un mayor peso entre los modelos con $\Delta AIC < 2$, fue el que consideró la *estación* como variable explicativa (Tabla 2). Mientras que el modelo que mejor explicó la presencia/ausencia de anticuerpos para WNV en las aves fue el *modelo nulo*, por lo que las variables analizadas no logran explicar la probabilidad de que un ave se haya infectado con el virus (Tabla 3).

Tabla 2: Modelos de Presencia/Ausencia de Ac NT para SLEV en aves silvestres en relación a la estación, especie y período de actividad viral.

Modelo	g.l.	AIC	k	AICc	dAICc	w
Estación	5	366.2478	5	360.317567	0	0.999883811
Nulo	1	381.8346	1	378.848553	18.530986	9.46231E-05
Período	2	383.8059	2	381.810551	21.4929837	2.15183E-05
Período + Est + Esp	82	461.2027	82	394.030607	33.7130395	4.77811E-08
Especie	78	482.7329	78	418.063133	57.7455651	2.88841E-13

Tabla 3: Modelos de Presencia/Ausencia de Ac NT para WNV en aves silvestres en relación a la estación, especie y período de actividad viral.

Modelo	g.l.	AIC	k	AICc	dAICc	w
Nulo	1	184.4519	1	182.456551	0	0.40381857
Período	2	185.8289	2	182.842853	0.38630233	0.33289081
Estación	5	189.2422	5	183.311967	0.85541628	0.26329039
Especie	78	276.8930	78	212.223233	29.7666814	1.3881E-07
Período + Est + Esp	82	280.0042	82	212.832107	30.3755558	1.0238E-07

Con respecto al modelo de *estación* para SLEV, se observan diferencias significativas entre estaciones (Tabla 4). Los valores de los coeficientes logarítmicos se transformaron en valores exponenciales a fin de lograr una mejor interpretación de los mismos. El *intercepto* es el valor de la variable que se toma como referencia; en este caso, el otoño del período 1. De esta manera se observa que es 2,79 veces más probable encontrar individuos con Ac NT para SLEV en el otoño

del período 2 que en el otoño del período 1. A su vez, es 0,3 veces menos probable encontrar individuos con Ac NT en el verano 2 que en el otoño 1.

Tabla 4: Coeficientes, errores estándar y valores de significancia de la variable *estación*, modelo seleccionado para explicar la Presencia/Ausencia de Ac NT para SLEV en aves silvestres.

	Coeficiente logarítmico	Coeficiente exponencial	Error estándar	Valor z	Pr (> z)
(Intercept)	-2.5455	0,0784	0.3672	-6.933	4.12e-12 ***
Otoño 2	1.0277	2,7946	0.4594	2.237	0.0253 *
Primavera 2	-0.2612	0,7701	0.5026	-0.520	0.6033
Verano 1	-0.4334	0,6483	0.5016	-0.864	0.3875
Verano 2	-1.0620	0,3457	0.5130	-2.070	0.0384 *

Códigos de significancia: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 '' 1

Relación entre seroprevalencia del SLEV con estación, período de actividad viral y NDVI.

En estos modelos, se agregó como variable explicativa el NDVI (Índice de vegetación de diferencia normalizada), considerando la seroprevalencia del SLEV como variable respuesta (Tabla 5). En términos de un mayor peso entre los modelos con $\Delta AIC < 2$, el mejor fue el de *estación*. Es decir, no se observó un efecto de los diferentes índices de NDVI sobre la seroprevalencia del virus. En las Figuras 12 y 13 se observan los valores de seroprevalencia para SLEV (los mismos en ambas figuras) y los valores medios y máximos de NDVI correspondientes al área de 500 m (Figura 12) y 5000 m (Figura 13).

Tabla 5: Modelos de Seroprevalencia del SLEV en aves silvestres en relación a las variables de estación, período de actividad viral y NDVI.

Modelo	g.l	AIC	k	AICc	dAICc	w
Estación	5	30.17883	5	36.17883	0	0.748038922
NDVImedia5000m	2	40.04075	2	39.44075	3.26192	0.146422314
NDVImedia500m	2	42.33127	2	41.73127	5.55244	0.046582969
NDVImax5000m	2	43.46009	2	42.86009	6.68126	0.026491529
NDVImax500m	2	43.72509	2	43.12509	6.94626	0.023204008
Nulo	1	46.64605	1	45.44605	9.26722	0.007270645
Período	2	48.63786	2	48.03786	11.85903	0.001989613

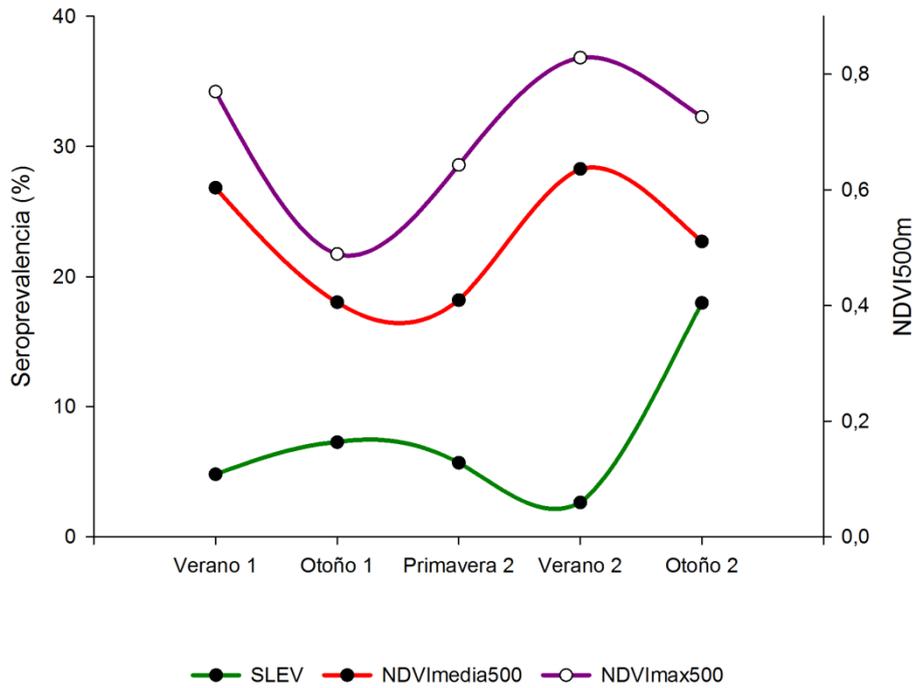


Figura 12: Variación estacional de la prevalencia de Ac NT para SLEV y los correspondientes valores de NDVI (medios y máximos) de la zona buffer de 500 metros, detectados en cada estación analizada.

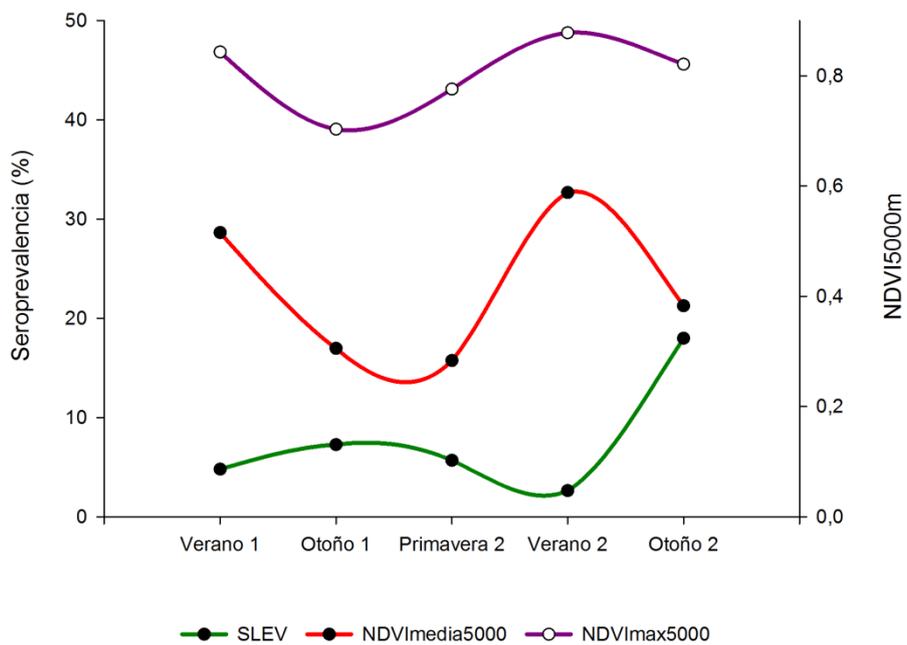


Figura 13: Variación estacional de la prevalencia de Ac NT para SLEV y los correspondientes valores de NDVI (medios y máximos) de la zona buffer de 5000 metros, detectados en cada estación analizada.

Entre las estaciones se observan diferencias significativas (Tabla 6). Teniendo en cuenta los valores exponenciales y considerando que el *intercepto* es la estación otoño 1, se observa que en el verano 2 es 0,28 veces menos probable que aumente la seroprevalencia, que en el otoño 1. Si bien el valor del coeficiente del otoño 2 no es significativo, sigue siendo la única estación con un coeficiente positivo lo cual indica que la seroprevalencia aumenta con respecto al otoño 1, mientras que en las demás estaciones, la seroprevalencia disminuye.

Tabla 6: Coeficientes, errores estándar y valores de significancia de la variable *estación*, modelo seleccionado para explicar la seroprevalencia del SLEV en aves silvestres en relación a las variables de NDVI.

	Coeficiente logarítmico	Coeficiente exponencial	Error estándar	Valor z	Pr (> z)
(Intercept)	-2.3273	0.0975	0.3704	-6.283	3.32e-10 ***
Otoño 2	0.8094	2.2465	0.4619	1.752	0.0797
Primavera 2	-0.4794	0.6191	0.5050	-0.949	0.3424
Verano 1	-0.6516	0.5212	0.5039	-1.293	0.1960
Verano 2	-1.2803	0.2779	0.5153	-2.484	0.0130 *

Códigos de significancia: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 '' 1

Relación entre presencia/ausencia de Ac NT para SLEV con estación, período de actividad viral y NDVI.

El modelo que mejor explicó la presencia/ausencia del SLEV considerando las variables de NDVI, fue el de *estación* (Tabla 7). Tampoco se observó un efecto de los diferentes NDVI sobre la presencia/ausencia de Ac NT.

Tabla 7: Modelos de Presencia/Ausencia de Ac NT para SLEV en aves silvestres en relación a las variables de NDVI.

Modelo	g.l.	AIC	k	AICc	dAICc	w
Estación	5	366.2478	5	372.2478	0	0.777786439
NDVImedia5000m	2	376.3928	2	375.7928	3.545	0.132151896
NDVImedia500m	2	378.7309	2	378.1309	5.8831	0.041054563
NDVImax5000m	2	380.3657	2	379.7657	7.5179	0.018128803
NDVImax500m	2	380.6291	2	380.0291	7.7813	0.01589178
Nulo	1	381.8346	2	380.6346	8.3868	0.011740589
Período	2	383.8059	2	383.2059	10.9581	0.00324593
Completo	84	463.2027	84	3234.2027	2861.9549	0
Especie	78	482.7329	78	2868.5329	2496.2851	0

Nuevamente, en el modelo de estación, se observa que en el otoño 2 hay una probabilidad de 2,79 veces mayor de encontrar individuos con Ac NT para SLEV, que en el otoño 1 (Tabla 8).

Tabla 8: Coeficientes, errores estándar y valores de significancia de la variable Estación, modelo seleccionado para explicar la Presencia/Ausencia de Ac NT para SLEV en aves silvestres en relación a las variables del NDVI.

	Coeficiente logarítmico	Coeficiente exponencial	Error estándar	Valor z	Pr (> z)
(Intercept)	-2.5455	0.0784	0.3672	-6.933	4.12e-12 ***
Otoño 2	1.0277	2.7946	0.4594	2.237	0.0253 *
Primavera 2	-0.2612	0.7701	0.5026	-0.520	0.6033
Verano 1	-0.4334	0.6483	0.5016	-0.864	0.3875
Verano 2	-1.0620	0.3457	0.5130	-2.070	0.0384 *

Códigos de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 '' 1

DISCUSIÓN

El análisis serológico de los sueros de aves realizado durante este trabajo permitió detectar la actividad enzoótica y endémica para ambos virus en un parche de espinal en la región sur de la Laguna de Mar Chiquita, confirmando hallazgos de trabajos anteriores. Sin embargo, se observa una disminución de los valores de seroprevalencia para ambos virus comparando períodos previos correspondiente a los años 2008-2010 y 2010-2012 (Berrón, 2014; Flores, 2015). Entre los años 2008 y 2010 la seroprevalencia de las aves en el parche de bosque analizado, mostró fluctuaciones en el tiempo pero con una clara tendencia alcista entre los períodos (7,49% a 14,59% para el SLEV y de 4,81% a 12,67% para el WNV) (Berrón, 2014). Durante los años 2010 a 2012, la tendencia general fue la disminución de las prevalencias para ambos virus. En estos años, la seroprevalencia general tanto para el SLEV como para el WNV fue de 9,8% (Flores, 2015). En el presente trabajo, las seroprevalencias para el SLEV (Período 1 = 5,72% y Período 2 = 5,86%) fueron menores a las observadas en los años 2010 a 2012. Lo mismo ocurre con el WNV, el cual disminuyó su seroprevalencia con respecto a años anteriores (las seroprevalencias detectadas en este estudio fueron 1,34% para el período 1 y 2,66% para el período 2). Con respecto a la dinámica estacional de estos virus también se observaron diferencias entre los mismos. El SLEV presentó un pico de actividad durante el otoño de cada período. En cuanto al WNV, se observaron dos picos de actividad en el segundo período

estudiado: uno en primavera y otro en otoño. Sin embargo, los valores de seroprevalencias se mantuvieron más bajos que los del SLEV. Estos patrones concuerdan con los hallados por Flores (2015) para el período 2010-2012, donde el SLEV presentó un patrón unimodal, mientras que para el WNV se observó una actividad bimodal con dos picos de actividad en cada período (primavera-otoño), el primero a fines de invierno y el segundo en otoño con una marcada disminución en verano (Flores, 2015). Debido a limitaciones del muestreo no pudimos detectar la actividad en la primavera del primer período.

Las variaciones estacionales observadas tanto en el período analizado como en los períodos previos podrían ser el resultado de las variaciones poblacionales típicas de los mosquitos vectores. En ecosistemas templados con una estacionalidad térmica e hídrica, la transmisión vectorial de los arbovirus disminuye a niveles críticos tanto así que podría comprometer la permanencia del arbovirus. Entre los factores que condicionan la abundancia y actividad de las distintas especies de mosquitos a lo largo de las estaciones y de los años, se encuentran la temperatura, humedad relativa, precipitaciones y naturaleza física del hábitat (Russel, 1986; 1987; Yang et al., 2008). La fluctuación en el nivel de agua debido a inundaciones periódicas y sequías frecuentes también puede alterar las comunidades de mosquitos (Batzer & Wissinger, 1996). En la provincia de Córdoba las lluvias comienzan en los meses de octubre/noviembre (primavera), generando los primeros sitios de oviposición para los “mosquitos de inundación” (como *Aedes* y *Psorophora*), y si las precipitaciones continúan y los criaderos mantienen el nivel de agua, éstos serían reemplazados paulatinamente por mosquitos de aguas permanentes como *Anopheles*, *Culex* y *Mansonia*, dando lugar a una sucesión temporal de especies (Visintín, 2012). Este aumento progresivo de las poblaciones de mosquitos vectores provoca el primer pico de actividad de amplificación para arbovirus como el SLEV y WNV. Sin embargo, durante el verano, particularmente en el mes de enero, las altas temperaturas y la disminución de las precipitaciones provocan la desaparición de los sitios de cría por evapotranspiración y la resultante disminución de la abundancia poblacional. Mientras que para el mes de marzo, las lluvias regresan, generando nuevos sitios de oviposición y cría, aumentando las poblaciones de mosquitos vectores y amplificando la actividad arboviral. De lo descripto, se espera que las especies de mosquitos *Culex* posean un patrón poblacional bimodal con un pico de actividad en primavera y un segundo pico mayor de actividad en otoño (Díaz et al., 2003; Batallán et al., 2015). Este mismo patrón es coincidente con la aparición de casos humanos por SLEV durante la epidemia en Córdoba en el 2005 (Spinsanti et al., 2008). Debido a los numerosos factores que

influyen en la actividad de estos arbovirus, es de esperar que existan fluctuaciones entre períodos, pero por lo general el pico de actividad en otoño suele ser el más elevado.

Como se mencionó anteriormente, los arbovirus en ambientes templados pueden experimentar el riesgo de extinción debido a la interrupción de la transmisión vectorial por los mosquitos vectores durante la estación invernal. Si bien se observa una presencia constante en todos los años desde el 2008 al 2014, la tendencia es una disminución general en los niveles de actividad. Esto podría indicar un proceso de extinción para ambos virus a largo plazo en este parche de espinal. Para la ciudad de Córdoba se han observado procesos de extinción a pequeña escala espacial en cortos períodos de tiempo evidenciado por el intercambio de genotipos del virus (Díaz et al., 2012). Pero además se han observado procesos de introducción y expansión de la actividad viral en aves evidenciado por la aparición de anticuerpos de un año al otro en numerosos sitios de la ciudad (Díaz et al., 2016). Por otro lado, la región de Mar Chiquita es un sitio con una compleja dinámica temporal estacional en la composición de aves, siendo sitio elegido por centenares de especies aviares y miles de individuos migrantes que arriban desde la primavera. Muchas de estas especies realizan desplazamientos migratorios desde lugares subtropicales a lugares templados, actuando como dispersores biológicos de virus. Recientemente, se documentó la introducción del genotipo III del virus SLE en la costa oeste de los EEUU aportando más evidencia a favor de las aves como dispersores (White et al., 2016; Díaz et al., 2018). Existen otros mecanismos de transmisión alternativos que contribuyen al mantenimiento del virus en la naturaleza durante la época desfavorable. En la transmisión vertical, el virus es transmitido por el vector infectado a su descendencia sin necesidad de intervención de un hospedador amplificador, lo cual lleva a bajas tasas de transmisión pero adquiere importancia en áreas templadas como un mecanismo de *overwinter*. Este tipo de transmisión se observó experimentalmente para el SLEV en poblaciones autóctonas de *Culex quinquefasciatus* (Flores et al., 2010). Otro mecanismo de *overwinter* que se ha postulado es a través de la transmisión vectorial entre vectores y hospedadores llevada a cabo en poblaciones de mosquitos no diapausantes. Es conocido que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* de Córdoba no entran en diapausa por lo que las hembras poseen el potencial de continuar alimentándose de vertebrados durante la época invernal (Almirón & Brewer, 1996).

Las condiciones ambientales pueden regular la ecología del virus debido a su efecto en las comunidades de mosquitos vectores y hospedadores aviares. El índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) permite estimar la actividad fotosintética y por lo tanto,

determinar fuentes de alimento para animales y hábitats de posibles vectores y hospedadores. Las diferencias estacionales en el NDVI son uno de los factores que mejor predicen la abundancia de los mosquitos (Brownstein et al., 2002). Vergara Cid et al. (2013) detectó, en la ciudad de Córdoba, que la proximidad a píxeles con $NDVI > 0,3$ se asoció a la ocurrencia de casos humanos de infección por SLEV. Estos píxeles representan importantes parches de vegetación donde las aves descansan, se alimentan y están en contacto con mosquitos. Esta interacción de vectores y hospedadores aviares susceptibles, provee un ambiente favorable para la amplificación del virus. Otros autores han demostrado el mismo valor de NDVI asociado a una mayor abundancia de *Cx. interfor* y *Cx. quinquefasciatus*, destacando de esta manera áreas con alta probabilidad de actividad del SLEV (Batallán et al., 2015). También se ha observado la relación positiva con el NDVI en estudios de seroprevalencia para WNV en equinos (Calistri et al., 2013; Bargaoui et al., 2015; Ahmadnejad et al., 2016). Sin embargo, en este estudio, las variables de NDVI no pudieron explicar la presencia/ausencia de anticuerpos para SLEV. Esto podría deberse a que tanto los valores como la variación del NDVI, no se asocian al recambio estacional de comunidades de mosquitos y aves que actúan como vectores y hospedadores de estos virus. A futuro, podría realizarse otro estudio recogiendo información a microescala teniendo en cuenta la vegetación, composición, estructura y características de suelo y relieve como potenciales sitios de cría de mosquitos.

De manera similar a lo que ocurre con un artrópodo hematófago para que sea considerado vector eficiente, con los vertebrados debemos conocer diferentes aspectos de su biología y contar con una diversidad de evidencia para poder evaluar su rol como hospedador. Además de saber si se lo encuentra infectado en la naturaleza, es importante conocer si es preferido por el mosquito vector, su abundancia y dinámica poblacional y su capacidad para amplificar el virus en condiciones de laboratorio. Una de las diferencias más llamativas encontradas en este trabajo es la exposición diferencial de las especies de aves entre los dos virus estudiados. Podemos mencionar el ejemplo de *Columbina picui* (Paloma Torcacita), la cual se encontró infectada con el SLEV en todas las estaciones durante los dos períodos analizados con prevalencias entre 50% y 3,28%. Mientras que su exposición al WNV fue baja (1,62%). Esta especie ha demostrado una alta seroprevalencia para el SLEV en estudios previos de diferentes regiones de la provincia de Córdoba (Sabattini et al., 1998; Berrón, 2014; Flores, 2015; Díaz et al., 2016). Sumado a esto, ha demostrado mediante inoculación experimental, viremias lo suficientemente altas y prolongadas como para infectar a los vectores implicados en la red de

transmisión para ambos virus (Díaz et al., 2011; 2018). Además es una de las especies mejor representadas en el área de estudio (en este trabajo, constituyó el mayor porcentaje de individuos analizados). Con respecto al WNV, las especies con mayor porcentaje de seroprevalencia fueron *Sicalis flaveola* y *A. badius*. Berrón (2014) señaló a *A. badius* como una de las especies con mayor seroprevalencia para este virus en la misma zona. Sin embargo, no sería importante en la red de transmisión debido a que los estudios de inoculación experimental indican que las viremias desarrolladas por esta especie son bajas y efímeras (Díaz et al., 2011), representando escasa importancia como aportante de virus a la red de mantenimiento y transmisión. Los mosquitos pueden utilizar diferentes hospedadores como fuente de alimento. Esta preferencia alimentaria controla el flujo viral y se modifica por factores extrínsecos como la abundancia del hospedador, la densidad del vector y/o el comportamiento defensivo de las aves (Kilpatrick et al., 2006; Molaei et al., 2006; Thiemann et al., 2012). Estudios realizados en la provincia de Córdoba demostraron que especies del género *Culex* pueden alimentarse tanto de aves como de mamíferos (Almirón & Brewer, 1995). Las diferencias observadas en el grado de exposición de las especies aviares a estos virus podría estar indicando la utilización de distintos mosquitos vectores por parte de estos, ya que en la zona están establecidas por lo menos 12 especies de *Culex* (Visintín, 2012) que podrían presentar competencias y capacidades vectoriales diferentes.

Los resultados presentados en este trabajo han corroborado la endemidad de estos virus en la región realizando un nuevo aporte al conocimiento sobre la temporalidad de los mismos y las especies aviares potencialmente implicadas en las redes de transmisión que ocurren en el parche del espinal.

Parte de los resultados obtenidos en este trabajo fueron presentados en la XXXVIII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE VIROLOGIA, en Valle Hermoso, Córdoba (Argentina) en el mes de Diciembre de 2018.

BIBLIOGRAFÍA

Ahmadnejad, F., Otarod, V., Fathnia, A., Ahmadabadi, A., Fallah, M. H., Zavareh, A., Miandehi, N., Durand, B., & Sabatier, P. (2016). Impact of Climate and Environmental Factors on West Nile Virus Circulation in Iran. *Journal of Arthropod-borne Diseases*, 10(3), 315.

Almirón, W. R., & Brewer, M. M. (1995). Preferencia de hospedadores de Culicidae (Diptera) recolectados en el centro de la Argentina. *Revista de Saúde Pública*, 29, 108-114.

Almirón, W. R., & Brewer, M. E. (1996). Winter biology of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say, (Diptera: Culicidae) from Córdoba, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91(5), 649-654.

Anyamba, A., Linthicum, K. J., Small, J. L., Collins, K. M., Tucker, C. J., Pak, E. W., Britch, S.C., Eastman, J.R., Pinzon, J.E., & Russell, K. L. (2012). Climate teleconnections and recent patterns of human and animal disease outbreaks. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(1), e1465.

Aviles, G., Rangeón, G., Vorndam, V., Briones, A., Baroni, P., Enria, D., & Sabattini, M. S. (1999). Dengue reemergence in Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, 5(4), 575.

Bargaoui, R., Lecollinet, S., & Lancelot, R. (2015). Mapping the Serological Prevalence Rate of West Nile fever in Equids, Tunisia. *Transboundary and Emerging Diseases*, 62(1), 55-66.

Batallán, G. P. (2013). Bionomía de *Culex interfor* Dyar en Córdoba, Argentina. Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. pp. 197.

Batallán, G. P., Estallo, E. L., Flores, F. S., Sartor, P., Contigiani, M. S., & Almirón, W. R. (2015). St. Louis Encephalitis virus mosquito vectors dynamics in three different environments in relation to remotely sensed environmental conditions. *Acta tropica*, 146, 53-59.

Batzer, D. P., & Wissinger, S. A. (1996). Ecology of insect communities in nontidal wetlands. *Annual review of entomology*, 41(1), 75-100.

Beranek, M., Quaglia, A., Peralta, G., Flores, F., Stein, M., Díaz, A., Almirón, W.R., & Contigiani, M.S. (2019). The potential of two new *Culex* species (Diptera: Culicidae) from central Argentina as competent vectors for the St. Louis encephalitis virus (Flavivirus: Flaviviridae). *Int J Microbiol.* 2019. *In press.*

Berrón, C.I. (2014). Preferencia de hospedadores aviares en especies de mosquitos Género *Culex* asociadas a la transmisión de *Flavivirus* (Flaviviridae) en el arco sur de la Laguna Mar Chiquita.

Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. pp. 155.

Black IV, W. C., Bennett, K. E., Gorrochótegui-Escalante, N., Barillas-Mury, C. V., Fernández-Salas, I., de Lourdes Muñoz, M., Farfán-Alé, J.A., Olson, K.E., & Beaty, B. J. (2002). Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*. *Archives of medical research*, 33(4), 379-388.

Boletín Integrado de Vigilancia N° 299 – SE 9 (2016). Página 21 de 86. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación (Argentina).

Boletín Integrado de Vigilancia N° 441 - SE 08 (2019). Página 9 de 36. Ministerio de Salud y Desarrollo social. Presidencia de la Nación (Argentina).

Bosch, I., Herrera, F., Navarro, J. C., Lentino, M., Dupuis, A., Maffei, J., Jones, M., Fernández, E., Perez, N., Pérez-Emán, J., Guimarães, A. É., Barrera, R., Valero, N., Ruiz, J., Velásquez, G., Martinez, J., Comach, G., Komar, N., Spielman, A., & Kramer, L. (2007). West nile virus, Venezuela. *Emerging Infectious Diseases*, 13(4), 651.

Brown, C. R., Brown, M. B., Moore, A. T., & Komar, N. (2007). Bird movement predicts Buggy Creek virus infection in insect vectors. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(3), 304-314.

Brown, C. R., Brown, M. B., Padhi, A., Foster, J. E., Moore, A. T., Pfeiffer, M., & Komar, N. (2008). Host and vector movement affects genetic diversity and spatial structure of Buggy Creek virus (Togaviridae). *Molecular Ecology*, 17(9), 2164-2173.

Brownstein, J. S., Rosen, H., Purdy, D., Miller, J. R., Merlino, M., Mostashari, F., & Fish, D. (2002). Spatial analysis of West Nile virus: rapid risk assessment of an introduced vector-borne zoonosis. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 2(3), 157-164.

Burke, D. S., & Monath, T. P. (2001). Flaviviruses. En: *Fields Virology*. 4ta Edic. Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE (Ed). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, EE.UU. Pp. 1043-1126.

Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2004). Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. *Sociological methods & research*, 33(2), 261-304.

Cabido, M.R., & Zak, M.R. (1999). Vegetación del norte de Córdoba. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Recursos Renovables de la Provincia de Córdoba. 57 pp.

Cabrera, A.L. (1976). Regiones Fitogeográficas Argentinas. En: *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. 2º Edic, tomo II, fascículo 1, Kugler, WF (Director). Buenos Aires, Argentina. pp 85.

Calisher, C. H., Karabatsos, N., Dalrymple, J. M., Shope, R. E., Porterfield, J. S., Westaway, E. G., & Brandt, W. E. (1989). Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *Journal of general virology*, 70(1), 37-43.

Calistri, P., Ippoliti, C., Candeloro, L., Benjelloun, A., El Harrak, M., Bouchra, B., Danzetta, M.L., Di Sabatino, D., & Conte, A. (2013). Analysis of climatic and environmental variables associated with the occurrence of West Nile virus in Morocco. *Preventive veterinary medicine*, 110(3-4), 549-553.

Campbell, G. L., Marfin, A. A., Lanciotti, R. S., & Gubler, D. J. (2002). West Nile virus. *The Lancet infectious diseases*, 2(9), 519-529.

Campos, R. K., Garcia-Blanco, M. A., & Bradrick, S. S. (2018). Roles of pro-viral host factors in mosquito-borne flavivirus infections. *Roles of Host Gene and Non-coding RNA Expression in Virus Infection*, 43-67.

Carrera, J. P., Forrester, N., Wang, E., Vittor, A. Y., Haddow, A. D., López-Vergès, S., Abadía, I., Castaño, E., Sosa, N., Báez, C., Estripeaut, D., Díaz, Y., Beltrán, D., Cisneros, J., Cedeño, H.G., Travassos da Rosa, A.P., Hernandez, H., Martínez-Torres, A.O., Tesh, R.B., & Weaver, S.C. (2013). Eastern equine encephalitis in Latin America. *New England Journal of Medicine*, 369(8), 732-744.

Clements, J., Schulenberg, T., Iliff, M., Sullivan, B., Wood, C., & Roberson, D. (2018). The eBird/Clements checklist of birds of the world: version 2018. (<http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/>)

Contigiani, M.S., Díaz, L., Spinsanti, L.I., & Tauro, L.B., (2016). Cap.13: Arbovirus. En: Investigaciones sobre mosquitos de Argentina. 1ª Edic. Berón, C.M., Campos, R.E., Gleiser, R.M., Díaz-Nieto, L.M., Salomón, O.D., Schweigmann, N. (Edit.) Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.pp. 157.

Daffner, J. F., Mitchell, C. J., Monath, T. P., Sabattini, M. S., Christensen, H. A., Darsie Jr, R. F., & Jakob Jr, W. L. (1987). Host-feeding patterns of Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected during and after an epizootic of western equine encephalitis. *Journal of medical entomology*, 24(2), 260-267.

de Azevedo Fernandes, N. C. C., Cunha, M. S., Guerra, J. M., Réssio, R. A., dos Santos Cirqueira, C., Iglesias, S. D. A., de Carvalho, J., Araujo, E.L.L., Catão-Dias, J.L., & Díaz-Delgado, J. (2017). Outbreak of yellow fever among nonhuman primates, Espirito Santo, Brazil, 2017. *Emerging infectious diseases*, 23(12), 2038.

- Díaz, L. A., Almirón, W. R., Almeida, F. L., Spinsanti, L. I., & Contigiani, M. S. (2003).** Vigilancia del virus encefalitis de San Luis y mosquitos (Diptera: Culicidae) en la provincia de Córdoba, Argentina. *Entomol Vect*, *10*(4), 551-566.
- Díaz, L. A., Ré, V., Almirón, W. R., Farías, A., Vázquez, A., Sanchez-Seco, M. P., Aguilar, J., Spinsanti, L., Konigheim, B., Visintin, A., García, J., Morales, M.A., Tenorio, A., & Contigiani, M. (2006).** Genotype III Saint Louis encephalitis virus outbreak, Argentina, 2005. *Emerging infectious diseases*, *12*(11), 1752.
- Díaz, L. A., Komar, N., Visintin, A., Juri, M. J. D., Stein, M., Allende, R. L., Spinsanti, L.I., Konigheim, B., Aguilar, J., Laurito, M., Almirón, W., & Contigiani, M. (2008).** West Nile virus in birds, Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, *14*(4), 689.
- Díaz, L. A., Flores, F. S., & Contigiani, M. S. (2011).** Viremia profiles and host competence index for West Nile virus (Flavivirus, Flaviviridae) in three autochthonous birds species from Argentina. *Journal of Ornithology*, *152*(1), 21-25.
- Díaz, L. A., Llinás, G. A., Vázquez, A., Tenorio, A., & Contigiani, M. S. (2012).** Silent circulation of St. Louis encephalitis virus prior to an encephalitis outbreak in Cordoba, Argentina (2005). *PLoS neglected tropical diseases*, *6*(1), e1489.
- Díaz, L. A., Flores, F. S., Quaglia, A., & Contigiani, M. S. (2013).** Intertwined arbovirus transmission activity: reassessing the transmission cycle paradigm. *Frontiers in physiology*, *3*, 493.
- Díaz, L. A., Quaglia, A. I., Konigheim, B. S., Boris, A. S., Aguilar, J. J., Komar, N., & Contigiani, M. S. (2016).** Activity patterns of St. Louis encephalitis and West Nile viruses in free ranging birds during a human encephalitis outbreak in Argentina. *PloS one*, *11*(8), e0161871.
- Díaz, A., Flores, F. S., Quaglia, A. I., & Contigiani, M. S. (2018).** Evaluation of Argentinean bird species as amplifying hosts for St. Louis encephalitis virus (Flavivirus, Flaviviridae). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *99*(1), 216-221.
- Doughty, C. T., Yawetz, S., & Lyons, J. (2017).** Emerging causes of arbovirus encephalitis in North America: Powassan, Chikungunya, and Zika viruses. *Current neurology and neuroscience reports*, *17*(2), 12.
- Earley, E., Peralta, P. H., & Johnson, K. M. (1967).** A plaque neutralization method for arboviruses. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, *125*(3), 741-747.

Engel, D., Jöst, H., Wink, M., Börstler, J., Bosch, S., Garigliany, M. M., Jöst, A., Czajka, C., Lühken, R., Ziegler, U., Groschup, M.H., Pfeffer, M., Becker, N., Cadar, D., & Schmidt-Chanasit, J. (2016). Reconstruction of the evolutionary history and dispersal of Usutu virus, a neglected emerging arbovirus in Europe and Africa. *MBio*, 7(1), e01938-15.

EOS-landviewer. Sistema de observación terrestre (<https://eos.com/landviewer>)

Fabbri, C.M., Morales, M.A., Luppó, V.C., Cappato Berger, F., Balanitro, B., Manrique, M., Fierro, F., Goenaga, S., Enria, D.A., & Levis, S.C. (2011). Brote de Encefalitis de San Luis en la Provincia de San Juan, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 1 (43): 89.

Flores, F. S., Díaz, L. A., Batallán, G. P., Almirón, W. R., & Contigiani, M. S. (2010). Vertical transmission of St. Louis encephalitis virus in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Córdoba, Argentina. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(10), 999-1002.

Flores, S. (2015). Estudio de garrapatas (Acari: Ixodidae y Argasidae) como vectores alternativos de los virus St. Louis Encephalitis y West Nile (*Flavivirus*) en el centro-norte de Argentina. Tesis doctoral Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. pp 121.

Giaetto, O., Lazarte, N., Zubaran, G., Berón, C., Diaz, A. (2018). Competencia vectorial para el virus West Nile en mosquitos *Culex quinquefasciatus*. XXXVIII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE VIROLOGIA. Sociedad Argentina de Virología - Asociación Argentina de Microbiología, Argentina. Valle Hermoso, Córdoba, Argentina.

Google Earth Engine. A planetary-scale platform for Earth science data and analysis (<https://earthengine.google.com/>)

Gubler, D.J., Kuno, G., & Markoff, L. (2007). Flaviviruses. En: Fields Virology. 5° Edic. Knipe DM, Howley PM (Ed.). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, EE.UU. pp. 1154-1252.

Hotez, P. J., & Murray, K. O. (2017). Dengue, West Nile virus, chikungunya, Zika and now Mayaro?. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(8), e0005462.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>) Fecha de acceso: Febrero 2019

Jia, X. Y., Briese, T., Jordan, I., Rambaut, A., Chi, H. C., Mackenzie, J. S., Hall, R.A., Scherret, J., & Lipkin, W. I. (1999). Genetic analysis of West Nile New York 1999 encephalitis virus. *The Lancet*, 354(9194), 1971-1972.

- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008).** Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, *451*(7181), 990.
- Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Campbell, S. R., Alleyne, E. O., Dobson, A. P., & Daszak, P. (2005).** West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm. *Emerging infectious diseases*, *11*(3), 425.
- Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Jones, M. J., Marra, P. P., & Daszak, P. (2006).** West Nile virus epidemics in North America are driven by shifts in mosquito feeding behavior. *PLoS biology*, *4*(4), e82.
- Komar, N. (2001).** West Nile virus surveillance using sentinel birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *951*(1), 58-73.
- Komar, N., Langevin, S., Hinten, S., Nemeth, N., Edwards, E., Hettler, D., Davis, B., Bowen, R., & Bunning, M. (2003).** Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerging infectious diseases*, *9*(3), 311.
- Kuno, G., & Chang, G. J. J. (2005).** Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clinical Microbiology Reviews*, *18*(4), 608-637.
- Liang, G., Gao, X., & Gould, E. A. (2015).** Factors responsible for the emergence of arboviruses; strategies, challenges and limitations for their control. *Emerging microbes & infections*, *4*(1), 1-5.
- Lloyd-Smith, J. O., George, D., Pepin, K. M., Pitzer, V. E., Pulliam, J. R., Dobson, A. P., Hudson, P.J., & Grenfell, B. T. (2009).** Epidemic dynamics at the human-animal interface. *Science*, *326*(5958), 1362-1367.
- Lumsden, L. L. (1958).** St. Louis encephalitis in 1933: Observations on epidemiological features. *Public health reports*, *73*(4), 340.
- Mccullagh, P., & Nelder, J.A. (1989).** Generalized linear models, Second Ed. Chapman and Hall, London, U.K.
- Mitchell, C. J., Monath, T. P., Sabattini, M. S., Cropp, C. B., Daffner, J. F., Calisher, C. H., Jakob, W.L., & Christensen, H. A. (1985).** Arbovirus Investigations in Argentina, 1977–1980. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *34*(5), 945-955.

Molaei, G., Andreadis, T. G., Armstrong, P. M., Anderson, J. F., & Vossbrinck, C. R. (2006). Host feeding patterns of *Culex* mosquitoes and West Nile virus transmission, northeastern United States. *Emerging infectious diseases*, 12(3), 468.

Monath, T. P., Sabattini, M. S., Pauli, R., Daffner, J. F., Mitchell, C. J., Bowen, G. S., & Cropp, C. B. (1985). Arbovirus investigations in Argentina, 1977–1980. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 34(5), 966-975.

Morales, M. A., Barrandeguy, M., Fabbri, C., Garcia, J. B., Vissani, A., Trono, K., Gutierrez, G., Pigretti, S., Menchaca, H., Garrido, N., Taylor, N., Fernandez, F., Levis, S., & Enría, D. (2006). West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerging infectious diseases*, 12(10), 1559.

Morales-Betoulle, M. E., Morales, H., Blitvich, B. J., Powers, A. M., Davis, E. A., Klein, R., & Cordon-Rosales, C. (2006). West Nile virus in horses, Guatemala. *Emerging infectious diseases*, 12(6), 1038.

Narosky, T., Yzurieta, D. (2010). Guía de identificación de aves de Argentina y Uruguay. 16ta Ed. Vázquez Massini Editores, Buenos Aires, Argentina. 427 pp.

Nash, D., Mostashari, F., Fine, A., Miller, J., O'leary, D., Murray, K., Huang, A., Rosenberg, A., Greenberg, A., Sherman, M., Wong, S., Campbell, G.L., Roehrig, J.T., Gubler, D.J., Shieh, W.J., Zaki, S., Smith, P., & Layton, M. (2001). The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *New England Journal of Medicine*, 344(24), 1807-1814.

Petersen, L. R., & Roehrig, J. T. (2001). West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerging Infectious Diseases*, 7(4), 611.

Pfeffer, M., & Dobler, G. (2010). Emergence of zoonotic arboviruses by animal trade and migration. *Parasites & vectors*, 3(1), 35.

Powers, A. M., Aguilar, P. V., Chandler, L. J., Brault, A. C., Meakins, T. A., Watts, D., Russell, K.L., Olson, J., Vasconcelos, P.F.C., Travassos Da Rosa, A., Weaver, S.C., & Tesh, R. B. (2006). Genetic relationships among Mayaro and Una viruses suggest distinct patterns of transmission. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75(3), 461-469.

QGIS. Sistema de información geográfica. Versión 2.18.20 (<https://www.qgis.org/es/site/>)

Reisen, W. K., Chiles, R. E., Martinez, V. M., Fang, Y., & Green, E. N. (2003). Experimental infection of California birds with western equine encephalomyelitis and St. Louis encephalitis viruses. *Journal of Medical Entomology*, 40(6), 968-982.

Reisen, W. K., Lothrop, H.D., Chiles, R.E., Madon, M.B., Cossen, C., Woods, L., Husted, S., Kramer, V., & Edman, J.D. (2004). West Nile virus in California. *Emerging Infectious Diseases*, 10(8), 1369.

Rodrigues, S. G., Nunes, M. R., Casseb, S. M., Prazeres, A. S., Rodrigues, D. S., Silva, M. O., Cruz, A.C.R., Tavares-Neto, J.C., & Vasconcelos, P. F. C. (2010). Molecular epidemiology of Saint Louis encephalitis virus in the Brazilian Amazon: genetic divergence and dispersal. *Journal of General Virology*, 91(10), 2420-2427.

Roiz, D., Ruiz, S., Soriguer, R., & Figuerola, J. (2015). Landscape effects on the presence, abundance and diversity of mosquitoes in Mediterranean wetlands. *PLoS One*, 10(6), e0128112.

Russell, R. C. (1986). Seasonal abundance and age composition of two populations of *Culex annulirostris* (Diptera: Culicidae) at Darwin, Northern Territory, Australia. *Journal of Medical Entomology*, 23(3), 279-285.

Russell, R. C. (1987). Seasonal abundance, longevity and population age composition of potential malaria vectors in northern and southern Australia. *Australian journal of zoology*, 35(3), 289-306.

Sabattini, M.S. (1969). Arbovirus del grupo B en la República Argentina. Su estudio en aves y roedores. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Rosario, Argentina. 96 pp.

Sabattini, M. S., Aviles, G., & Monath, T. O. (1998). Historical, epidemiological and ecological aspects of arboviruses in Argentina: Flaviviridae, Bunyaviridae and Rhabdoviridae. In *An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries* (pp. 113-34).

Seijo, A., Morales, A., Poustis, G., Romer, Y., Efron, E., Vilora, G., Lloveras, S.C., Giamperetti, S., Puente, T., Monroig, J., Luppo, V., & Enria, D. (2011). Brote de encefalitis de San Luis en el área metropolitana Buenos Aires. *Medicina*, 71(3), 211-217.

Smithburn, K. C., Hughes, T. P., Burke, A. W., & Paul, J. H. (1940). A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda¹. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1(4), 471-492.

Spinsanti, L., Basquiera, A. L., Bulacio, S., Somale, V., Kim, S. C., Re, V., Rabbat, D., Zárate, A., Zlocowski, J.C., Quiroga Mayor C., Contigiani, M., & Palacio, S. (2003). St. Louis encephalitis in Argentina: the first case reported in the last seventeen years. *Emerging infectious diseases*, 9(2), 271.

Spinsanti, L. I., Díaz, L. A., Glatstein, N., Arselán, S., Morales, M. A., Farías, A. A., Fabbri, C., Aguilar, J.J., Ré, V., Frías, M., Almirón, W. R., Hunsperger, E., Siirin, M., TravassosDa Rosa, A., Tesh, R.B., Enría, D., & Contigiani, M. (2008). Human outbreak of St. Louis encephalitis detected in Argentina, 2005. *Journal of Clinical Virology*, 42(1), 27-33.

Steele, K. E., Linn, M. J., Schoepp, R. J., Komar, N., Geisbert, T. W., Manduca, R. M., Calle, P.P., Raphael, B.L., Clippinger, T.L., Larsen, T., Smith, J., Lanciotti, R.S., Panella, N.A., & McNamara, T.S. (2000). Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Veterinary Pathology*, 37(3), 208-224.

Tabachnick, W. J. (2016). Ecological effects on arbovirus-mosquito cycles of transmission. *Current Opinion in Virology*, 21, 124-131.

Tauro, L. B., Rivarola, M. E., Lucca, E., Mariño, B., Mazzini, R., Cardoso, J. F., Barrandeguy, M.E., Teixeira Nunes, M.R., & Contigiani, M. S. (2015). First isolation of Bunyamwera virus (Bunyaviridae family) from horses with neurological disease and an abortion in Argentina. *The Veterinary Journal*, 206(1), 111-114.

Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 356(1411), 983-989.

Thiemann, T. C., Lemenager, D. A., Kluh, S., Carroll, B. D., Lothrop, H. D., & Reisen, W. K. (2012). Spatial variation in host feeding patterns of *Culex tarsalis* and the *Culex pipiens* Complex (Diptera: Culicidae) in California. *Journal of medical entomology*, 49(4), 903-916.

Vasconcelos, P. F., Travassos da Rosa, A., Rodrigues, S. G., Travassos da Rosa, E. S., Dégallier, N., da Rosa, T., & Jorge, F. S. (2001). Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. *Cadernos de Saúde Pública*, 17, S155-S164.

Vázquez, J. (1979). Suelos. En: Geografía física de la provincia de Córdoba. (Eds. Vázquez J, Miatello R, Roqué M). Editorial Boldt, Buenos Aires. pp. 453-458.

Vergara Cid C., (2011). Estudio serológico de Flavivirus (encefalitis St. Louis, West Nile y dengue-1) en la ciudad de Córdoba en los años 2009-2010. Tesina de grado de Ciencias Biológicas. *Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.*

Vergara Cid, C., Estallo, E. L., Almirón, W. R., Contigiani, M. S., & Spinsanti, L. I. (2013). Landscape determinants of Saint Louis encephalitis human infections in Córdoba city, Argentina during 2010. *Acta tropica*, 125(3), 303-308.

Viral Zone page (https://viralzone.expasy.org/24?outline=all_by_species)

Visintin, A. M. (2012). Estructura y dinámica de la comunidad de Culicidae (Diptera) en el arco sur de la Laguna de Mar Chiquita, Córdoba, Argentina. Tesis doctoral Universidad Nacional de Córdoba: 219 pp.

Vittor, A. Y., Armien, B., Gonzalez, P., Carrera, J. P., Dominguez, C., Valderrama, A., Glass, G.E., Beltran, D., Cisneros, J., Wang, E., Castillo, A., Moreno, B., & Weaver, S.C. (2016). Epidemiology of emergent Madariaga encephalitis in a region with endemic Venezuelan equine encephalitis: initial host studies and human cross-sectional study in Darien, Panama. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(4), e0004554.

Weaver, S. C., & Barrett, A. D. (2004). Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nature Reviews Microbiology*, 2(10), 789.

Weaver, S. C., & Reisen, W. K. (2010). Present and future arboviral threats. *Antiviral research*, 85(2), 328-345.

White, G.S., Symmes, K., Sun, P., Fang, Y., Garcia, S., Steiner, C., Smith, K., Reisen, W.K., & Coffey, L.L. (2016). Reemergence of St. Louis Encephalitis Virus, California, 2015. *Emerging infectious diseases*, 22(12), 2185.

Yang, G. J., Brook, B. W., Whelan, P. I., Cleland, S., & Bradshaw, C. J. (2008). Endogenous and exogenous factors controlling temporal abundance patterns of tropical mosquitoes. *Ecological Applications*, 18(8), 2028-2040.

ANEXO

Tabla 1: Especies de aves analizadas en un área boscosa al sudoeste de la Laguna Mar Chiquita desde marzo de 2013 hasta mayo de 2014. Se indica el estatus de residencia según Girauo et al. (2006). Taxonomía según Narosky e Yzurieta (2010).

N°	Orden, Familia, Especie	Nombre vulgar	Estatus de residencia	N° analizado
PELECANIFORMES				
Ardeidae				
1	<i>Bubulcus ibis</i>	Garza Bueyera	ocasional	1
FALCONIFORMES				
Falconidae				
2	<i>Falco femoralis</i>	Halcón Aplomado	ocasional	1
COLUMBIFORMES				
Columbidae				
3	<i>Columbina picui</i>	Torcacita	permanente	185
4	<i>Leptotila verreauxi</i>	Yerutí	permanente	6
5	<i>Patagiones maculosa</i>	Paloma ala manchada	permanente	1
6	<i>Zenaida auriculata</i>	Torcaza	permanente	12
PSITTACIFORMES				
Psittacidae				
7	<i>Myiopsitta monachus</i>	Cotorra Común	permanente	14
CUCULIFORMES				
Cuculidae				
8	<i>Coccyzus melacoryphus</i>	Cuclillo Canela	estacional (eest)	1
STRIGIFORMES				
Strigidae				
9	<i>Glauclidium brasilianum</i>	Caburé Chico	estacional (einv)	2
PICIFORMES				
Picidae				
10	<i>Colaptes melanochloros</i>	Carpintero Real común	permanente	5
11	<i>Dryobates mixtus</i>	Carpintero Bataraz chico	permanente	2
12	<i>Melanerpes cactarum</i>	Carpintero del cardón	permanente	10
13	<i>Picumnus cirratus</i>	Carpinterito Común		1
GALBULIFORMES				
Bucconidae				
14	<i>Nystalus maculatus</i>	Durmilí	permanente	1
PASSERIFORMES				
Cardinalidae				
15	<i>Cyanoloxia brissonii</i>	Reinamora Grande	Indeterminado	2
Cotingidae				
16	<i>Phytotoma rutila</i>	Cortarrama	permanente	54
Furnariidae				
17	<i>Asthenes baeri</i>	Canastero Chaqueño	permanente	4
18	<i>Asthenes pyrrholeuca</i>	Canastero Coludo	indeterminado	3
19	<i>Asthenes</i> spp.			1
20	<i>Cranioleuca pyrrhophia</i>	Curitie Blanco	permanente	4
21	<i>Cranioleuca sulphurifera</i>	Curitie Ocráceo		1
22	<i>Drymornis bridgesii</i>	Chincheró Grande	ocasional	9
23	<i>Furnarius rufus</i>	Hornero	permanente	22
24	<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	Chincheró Chico	permanente	12
25	<i>Leptasthenura platensis</i>	Coludito Copetón	ocasional	2
26	<i>Phacellodomus silbilatrix</i>	Espinero Chico	ocasional	3

Tabla 1: Continuación

N°	Orden, Familia, Especie	Nombre vulgar	Estatus de residencia	N° analizado
27	<i>Schoeniophylax phryganophilus</i>	Chotoy		1
28	<i>Synallaxis albescens</i>	Pijui cola parda	estacional (eest)	14
29	<i>Synallaxis frontalis</i>	Pijui frente gris	estacional (eest)	7
30	<i>Tarphonomus certhioides</i>	Bandurrita Chaqueña	permanente	9
Hirundinidae				
31	<i>Progne tapera</i>	Golondrina Parda	estacional (eestv)	2
Icteridae				
32	<i>Agelaioides badius</i>	Tordo Músico	permanente	20
33	<i>Molothrus bonariensis</i>	Tordo Renegrado	permanente	8
34	<i>Molothrus rufoaxillaris</i>	Tordo pico corto	ocasional	2
Mimidae				
35	<i>Mimus saturninus</i>	Calandria Grande	permanente	4
36	<i>Mimus triurus</i>	Calandria Real	estacional (einv)	1
Parulidae				
37	<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	Arañero cara negra	estacional (eest)	18
Passerellidae				
38	<i>Ammodramus humeralis</i>	Cachilo ceja amarilla	indeterminado	1
39	<i>Rhynchospiza strigiceps</i>	Cachilo corona castaña	permanente	7
40	<i>Zonotrichia capensis</i>	Chingolo	permanente	22
Passeridae				
41	<i>Passer domesticus</i>	Gorrión		8
Rhinocryptidae				
42	<i>Rhinocrypta lanceolata</i>	Gallito Copetón	ocasional	1
Thamnophilidae				
43	<i>Thamnophilus caerulescens</i>	Choca Común	permanente	3
Thraupidae				
44	<i>Coryphospingus cucullatus</i>	Brasita de fuego	permanente	21
45	<i>Microspingus melanoleucus</i>	Monterita cabeza negra	permanente	6
46	<i>Microspingus torquatus</i>	Monterita de collar	permanente	5
47	<i>Paroaria coronata</i>	Cardenal	permanente	18
48	<i>Pipraeidea bonariensis</i>	Naranjero	permanente	12
49	<i>Poospiza ornata</i>	Monterita Canela		1
50	<i>Poospiza whittii</i>	Sietevestidos Serrano	estacional (eest)	1
51	<i>Saltator aurantirostris</i>	Pepitero de collar	permanente	30
52	<i>Saltator coerulescens</i>	Pepitero Gris	Indeterminado	5
53	<i>Saltatricula multicolor</i>	Pepitero Chico	permanente	1
54	<i>Sicalis flaveola</i>	Jilguero	ocasional	21
55	<i>Sicalis luteola</i>	Misto	permanente	1
56	<i>Sporophila caerulescens</i>	Corbatita Común	estacional (eest)	31
57	<i>Thraupis sayaca</i>	Celestino	Indeterminado	1
Troglodytidae				
58	<i>Troglodytes aedon</i>	Ratona común	permanente	14
Turdidae				
59	<i>Turdus amaurochalinus</i>	Zorzal Chalchanero	permanente	19
Tyrannidae				
60	<i>Elaenia albiceps</i>	Fiofio Silbón	permanente	54
61	<i>Elaenia parvirostris</i>	Fiofio pico corto	permanente	63
62	<i>Elaenia</i> spp.	Fiofio		24
63	<i>Empidonomus aurentioatrocristatus</i>	Tuquito gris	estacional (eest)	1
64	<i>Euscarthmus meloryphus</i>	Barullero	estacional (eest)	1

Tabla 1: Continuación

N°	Orden, Familia, Especie	Nombre vulgar	Estatus de residencia	N° analizado
65	<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i>	Mosqueta ojo dorado	estacional (einv)	1
66	<i>Knipolegus aterrinus</i>	Viudita Común	permanente	1
67	<i>Knipolegus hudsoni</i>	Viudita Chica		1
68	<i>Knipolegus striaticeps</i>	Viudita Chaqueña	permanente	1
69	<i>Myiarchus swainsoni</i>	Burlisto pico canela	ocasional	3
70	<i>Myiarchus tyrannulus</i>	Burlisto cola castaña		1
71	<i>Myiophobus fasciatus</i>	Mosqueta Estriada	estacional (eest)	1
72	<i>Pitangus sulphuratus</i>	Benteveo	permanente	15
73	<i>Pyrocephalus rubinus</i>	Churrinche	estacional (eest)	3
74	<i>Serpophaga subcristata</i>	Piojito Común	estacional (eest)	1
75	<i>Stigmatura budytoides</i>	Calandrita	permanente	8
76	<i>Sublegatus modestus</i>	Suiriri pico corto	ocasional	5
77	<i>Suiriri suiriri</i>	Suiriri Común		1
78	<i>Tyrannus savana</i>	Tijereta	estacional (eest)	1

Scripts de los Modelos Lineales Generalizados

- **Presencia/ausencia de Ac NT para SLEV en función de estación, período de actividad viral y especie.**

Modelo Nulo

```
m0<-glm(Z~1, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo de período

```
m1<-glm(Z~AvesMC$Período, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo de estación

```
m2<-glm(Z~AvesMC$Estación, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo de especie

```
m3<-glm(Z~AvesMC$Especie, family=binomial, data=AvesMC)
```

#Modelo completo (todas las variables)

```
m4<-glm(Z~AvesMC$Estación+AvesMC$Período+ AvesMC$Especie, family=binomial, data=AvesMC)
```

Valor de AIC

```
AIC(m0,m1,m2,m3,m4)
```

#Modelos candidatos (inferencia multi modelo)

```
Cand.models<-list(m0,m1,m2,m3,m4)
```

```
Modnames<-c("m0","m1","m2","m3","m4")
```

```
print(aictab(cand.set = Cand.models, modnames = Modnames, second.ord = TRUE), digits = 3)
```

- **Presencia/Ausencia de Ac NT para WNV en función de estación, período de actividad viral y especie**

Modelo Nulo

```
m5<-glm(W~1, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo de período

```
m6<-glm(W~AvesMC$Período, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo de estación

```
m7<-glm(W~AvesMC$Estación, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo de especie

```
m8<-glm(W~AvesMC$Especie, family=binomial, data=AvesMC)
```

Modelo completo (todas las variables)

```
m9<-glm(W~AvesMC$Estación+AvesMC$Período + AvesMC$Especie, family=binomial, data=AvesMC)
```

Valor de AIC

```
AIC(m5,m6,m7,m8,m9)
```

#Modelos candidatos (inferencia multi modelo)

```
Cand.models<-list(m5,m6,m7,m8,m9)
```

```
Modnames<-c("m5", "m6", "m7", "m8", "m9")
```

```
print(aictab(cand.set = Cand.models, modnames = Modnames, second.ord = TRUE), digits = 3)
```

- **Seroprevalencia de SLEV en función de NDVI, estación y período de actividad viral**

Modelo Nulo

```
M0<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ 1, data=Sero, family = binomial(link = "logit"))
```

Modelo de período

```
M1<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$Período, data=Sero, family = binomial(link = "logit"))
```

Modelo de estación

```
M2<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$Estación, data=Sero, family =binomial(link = "logit"))
```

Modelo de NDVI media 500m

```
M3<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVI media500, data=Sero, family =binomial(link = "logit"))
```

Modelo de NDVI max 500m

```
M4<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVI max500, data=Sero, family =binomial(link = "logit"))
```

Modelo NDVI media 5000m

```
M5<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVI media5000, data=Sero, family =binomial(link = "logit"))
```

#Modelo NDVImax 5000m

```
M6<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVImax5000, data=Sero, family  
=binomial(link = "logit"))
```

Valor de AIC

```
AIC (M0,M1,M2,M3,M4,M5,M6)
```

Modelos candidatos (inferencia multi modelo)

```
Cand.models<-list(M0,M1,M2,M3,M4,M5,M6)
```

```
Modnames<-c("M0","M1","M2","M3","M4","M5","M6")
```

```
print(aictab(cand.set = Cand.models, modnames = Modnames, second.ord = TRUE), digits = 3)
```

- **Presencia/Ausencia de Ac NT para SLEV en función de NDVI, estación y período de actividad viral**

Modelo Nulo

```
M0<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ 1, data=Sero, family = binomial(link = "logit"))
```

Modelo de período

```
M1<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$Período, data=Sero, family = binomial(link  
= "logit"))
```

Modelo de estación

```
M2<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$Estación, data=Sero, family =binomial(link  
= "logit"))
```

Modelo de NDVImedia 500m

```
M3<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVImedia500, data=Sero, family  
=binomial(link = "logit"))
```

Modelo de NDVImax 500m

```
M4<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVImax500, data=Sero, family  
=binomial(link = "logit"))
```

Modelo de NDVImedia 5000m

```
M5<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVImedia5000, data=Sero, family  
=binomial(link = "logit"))
```

Modelo de NDVImax 5000m

```
M6<-glm(cbind(Sero$Cant.pos, Sero$Cant.neg)~ Sero$NDVImax5000, data=Sero, family  
=binomial(link = "logit"))
```

Valor de AIC

```
AIC(M0,M1,M2,M3,M4,M5,M6)
```

Modelos candidatos (inferencia multi modelo)

```
Cand.models<-list(M0,M1,M2,M3,M4,M5,M6)
```

```
Modnames<-c("M0","M1","M2","M3","M4","M5","M6")
```

```
print(aictab(cand.set = Cand.models, modnames = Modnames, second.ord = TRUE), digits = 3)
```

Script de descarga automatizada de imágenes LANDSAT 8 y capas de NDVI correspondientes

```
var landsat = ee.Image('LANDSAT/LC08/C01/T1_TOA/LC08_229082_20170121')
  .select(['B2', 'B3', 'B4', 'B5', 'B6', 'B7']);
//var dem=ee.Image('USGS/SRTMGL1_003')
// Create a geometry representing an export region.
//var geometry1 = ee.FeatureCollection('ft:151b_anuABqtfIpu6F30Ee42vgh7GMyC5vkfZq1jT');
//print(geometry1);
//Map.addLayer(geometry1, {}, 'From Fusion Table');
//LC08_L1TP_229081_20170918_20170929_01_T1
// Export the image, specifying scale and region.
var imageRGB = landsat.visualize({bands: ['B4', 'B3', 'B2'], max: 0.35, gamma: [1.3, 1.1, 0.9]});
Export.image.toDrive({
  image: landsat,
  description: 'L821En17',
  folder:'landsats',
  fileNamePrefix:'L821En17',
  scale: 30,
  region: geometry
});
// Define the visualization parameters.
var vizParams = {
  bands: ['B4', 'B3', 'B2'],
  min: 0,
  max: 0.35,
  gamma: [1.3, 1.1, 0.9]
};
// Center the map and display the image.
Map.addLayer(landsat, vizParams, 'area de estudio');
var ndvi = landsat.normalizedDifference(['B5', 'B4']);
Export.image.toDrive({
  image: ndvi,
  description: 'L821En17NDVI',
  folder:'landsats',
  fileNamePrefix:'L821En17NDVI',
  scale: 30,
  region: geometry
});
```