



inifap
PRODUCE



Encefalitis Equinas por Arbovirus

María Luisa Zárate Aquino
Antonio Morilla González
Diódoro Batalla Campero



¿Qué es la OPS-OMS ?

La **Organización Panamericana de la Salud (OPS)**, es la agencia de cooperación internacional especializada en salud del Sistema Interamericano con más de 90 años de experiencia trabajando para mejorar la salud y el nivel de vida en los países de las Américas. Esta organización también actúa como la oficina Regional para las Américas de la **Organización Mundial de la Salud (OMS)** y como tal forma parte del Sistema de las Naciones Unidas.

El programa de Salud Pública Veterinaria tiene como objetivo apoyar a los Estados miembros en sus programas nacionales prioritarios en las áreas de Zoonosis, Protección de los Alimentos, Educación y Organización de Servicios de Salud Pública Veterinaria, Modelos Biológicos y la erradicación de la Fiebre Aftosa.

En relación a las zoonosis, la misión de la OPS es colaborar en la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las enfermedades comunes o transmitidas entre los animales y los humanos. Entre estas enfermedades se encuentra la rabia, tuberculosis bovina, brucelosis, encefalitis equina, teniasis/cisticercosis, hidatidosis y otras; varias de ellas emergentes actualmente.

¿Qué es el IICA?

El **Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)** es el organismo especializado en Agricultura del Sistema Interamericano. Sus orígenes se remontan a 1942, cuando el Consejo Directivo de la Unión Panamericana aprobó la creación del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, con sede en Costa Rica.

La Misión del Instituto es apoyar a los 34 Estados Miembros para lograr la sostenibilidad agropecuaria, en el marco de la integración hemisférica, como contribución al desarrollo rural, a través de acciones de cooperación en las siguientes áreas estratégicas:

- Políticas Socioeconómicas, Comercio e Inversiones
- Ciencia y Tecnología, Recursos Naturales y Producción Agropecuaria
- Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de Alimentos
- Desarrollo Rural Sostenible
- Capacitación y Educación
- Información y Comunicación.

El Plan de Mediano Plazo 1998-2002 constituye el marco orientador de las acciones del IICA para el período de referencia.

376



inifap



Encefalitis Equinas por Arbovirus.

——— Editores ———

María Luisa Zárate Aquino

Antonio Morilla González

Diódoro Batalla Campero

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, SAGAR
México, D.F. 1999



00007228

1999
México, D. F.

ISBN970-92272-0-3
ISBN970-91197-7-X

ÍNDICE

Autores	XI
Prólogo	XV
Introducción	XVII

I. INTRODUCCIÓN A LOS ARBOVIRUS QUE CAUSAN ENCEFALITIS

María Luisa Zárate Aquino

A. Introducción	2
B. Morfología y estructura	2
C. Marcadores genéticos de cepas virales	2
D. Replicación viral	3
E. Modelos animales	4
F. Patogénesis	4
G. Manifestaciones clínicas	6
H. Diagnóstico	7
I. Tratamiento	8
J. Ecología	8
K. Historia natural, huéspedes intermediarios y reservorios	8
L. Epidemiología	12
M. Prevención y control	14
N. Profilaxis con vacunas	14
O. Control de vectores	15
P. Control del ambiente	16
Q. Control del huésped	16
R. Conclusiones.....	16
Referencias	17

II. EVOLUCIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Rebeca Rico-Hesse

A. Introducción.....	27
B. Metodología	28
C. Resultados	29
D. Conclusión.....	33
Referencias	34

III. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

George V. Ludwig

A. Introducción.....	41
B. Serología:	
Neutralización, fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación, ELISA-IgG, ELISA IgM	43
C. Detección del virus	
Aislamiento, ELISA de captura del antígeno, PCR	55

IV. SITUACIÓN DE LAS ENCEFALITIS EQUINAS EN LAS AMÉRICAS

Alfonso Ruíz

A. Introducción.....	67
B. Encefalitis equina del este (EEE)	67
C. Encefalitis equina del oeste (EEO)	68
D. Encefalitis equina venezolana (EEV)	68
E. Consideraciones generales sobre la situación de las encefalitis equinas en América Latina y el Caribe	70
F. Propuesta para la reactivación de la vigilancia epidemiológica regional de las encefalitis equinas	71
1. Fortalecimiento del diagnóstico de laboratorio	71
2. Vigilancia epidemiológica	72
a. Caracterización epidemiológica	73
b. Notificación e investigación de casos y brotes	73
c. El sistema de información	74
d. Centinelización	74
e. Investigación	75
1) Caracterización viral	75
2) Caracterización antigénica de la cepa vacunal	76
3) Inmunidad post-vacunal de los equinos para EEV	76
3. La colaboración intersectorial	76
4. La participación social	77
Referencias	78

V. ARBOVIRUS QUE CAUSAN ENCEFALITIS EN NORTE AMÉRICA

María Luisa Zárate Aquino

A. Introducción.....	88
B. Encefalitis Equina del Oeste (EEO)	89
1. Epidemiología	89
2. Transmisión.....	89
3. Datos clínicos y patológicos	89
4. Diagnóstico	90
5. Tratamiento.....	90
6. Prevención y control	91
C. Encefalitis Equina del Este (EEE)	91
1. Etiología.....	91
2. Epidemiología	91
3. Transmisión.....	91
4. Datos clínicos y patología	92
5. Diagnóstico.....	92
6. Tratamiento.....	92
7. Prevención y control	93
D. Encefalitis Equina Venezolana	93
1. Etiología.....	93
2. Epidemiología	93
3. Transmisión.....	94
4. Datos clínicos y patológicos	94
5. Diagnóstico	95
6. Tratamiento	95
7. Prevención y control	95
E. Encefalitis de San Luis (ESL)	95
1. Etiología.....	95
2. Epidemiología	96
3. Transmisión.....	96
4. Datos clínicos y patológicos	96
5. Diagnóstico	97
6. Tratamiento.....	98
7. Prevención y control	98
8. Brote de Encefalitis de San Luis en Sonora, México	98
F. Encefalitis de California	100
1. Etiología.....	100
2. Epidemiología	100
3. Transmisión.....	101
4. Datos clínicos y patológicos	101

5. Diagnóstico	102
6. Tratamiento	102
7. Prevención y control	102
G. Encefalitis por Virus Rocío	102
H. Encefalitis por Virus Powassan	102
Referencias	102

VI. LA SITUACIÓN DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN MÉXICO HASTA 1980

Antonio Morilla González

A. Introducción	108
B. Agente etiológico	109
1. Propiedades físicas y químicas	109
2. Sistemas de cultivo y huéspedes susceptibles	110
3. Multiplicación viral	110
4. Subtipos de virus	111
5. Serología	112
C. Patogenia	112
D. Diagnóstico	114
E. Vacunas	115
F. Ecología de la EEV	116
1. Artrópodos y otros medios de transmisión de la EEV	117
2. Mamíferos	120
3. Aves	122
G. Encefalitis Equina Venezolana en México antes de 1972	122
H. La situación de la EEV después del brote de 1969-1972	125
Referencias	140

VII. LOS BOVINOS COMO CENTINELAS PARA DETECTAR LA ACTIVIDAD DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Morilla González Antonio, Carlos Ramón Bautista Garfias, María Luisa Zárate Aquino, Miguel Gallo de la Torre, Carlos Rosales Ortega

A. Introducción	161
B. Material y métodos	162
C. Resultados	162
D. Discusión	162
Referencias	164

VIII. INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE DOS ESPECIES DE MOSQUITOS CON LA CEPA VACUNAL TC-83

Carlos Ramón Bautista Garfias, Samuel Mercado Sánchez, Antonio Morilla González

A. Introducción.....	168
B. Material y Métodos	169
C. Resultados	170
C. Discusión	170
Referencias	171

IX. CIRCULACION DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA DESPUÉS DE 20 AÑOS DE SILENCIO EN MÉXICO

María Luisa Zárate Aquino, José Luis Valdespino Gómez, Verónica Rivero Leal, Guillermina Madrigal Ayala

A. Introducción	175
B. Material y métodos	177
C. Resultados serológicos	179
D. Resultados virológicos	180
E. Discusión	180
F. Conclusiones	182
Referencias	183

X. BROTE DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LA COSTA DE CHIAPAS, MÉXICO EN 1993

Marco A. Méndez Ochoa, Armando Mateos Poumían, Roberto Navarro López César Villarreal Chávez, Moises Fraire Cachon.

A. Antecedentes	188
B. Epizootiología del brote	189
C. Aislamiento viral	189
D. Estrategias aplicadas para el control del brote	190
E. Coordinación interinstitucional	190
F. Situación hasta diciembre de 1995	191
G. Vigilancia epidemiológica de los municipios afectados	191

XI. ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN EL ISTMO DE OAXACA, MÉXICO, 1996

Marco A. Méndez Ochoa, César Villarreal Chávez, Roberto Navarro López, Ángel Omar Flores Hernández

A. Epizootiología del brote	194
B. Estrategias aplicadas en el brote	195
1. Investigación epizootiológica	195
2. Diagnóstico	195
3. Vacunación	196
4. Control de vectores	196
5. Control de movimiento de equinos	196
6. Difusión	196
7. Vigilancia epizootiológica	197

XII. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA PARA DETECTAR LA PRESENCIA DEL VIRUS ENDÉMICO DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LOS EQUINOS Y ANIMALES SILVESTRES DEL ESTADO DE CHIAPAS, MÉXICO

Roberto Navarro López, Ángel Omar Flores Hernández, César Villarreal Chávez, Marco A. Méndez Ochoa

A. Introducción	200
B. Material y métodos	202
C. Resultados	204
D. Discusión	204
Lecturas complementarias	205

XIII. ARBOVIRUS CAUSANTES DE ENCEFALITIS EN CENTROAMÉRICA Y EN LA AMAZONIA DE BRASIL

Amelia Paes De Andrade Travassos Da Rosa, Pedro Fernando Da Costa Vasconcelos, Jorge Fernando Soares Travassos Da Rosa y Nicolás Degallier

A. Introducción	209
B. Virus del complejo de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV)	210
1. Mucambo (MUC)	211
2. PIXUNA	213

C. Encefalitis Equina del Este (EEE)	214
D. Encefalitis Equina del Oeste (EEO)	215
E. Encefalitis De San Luis (ESL)	216
Referencias	217

XIV. LA EXPERIENCIA VENEZOLANA CON LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Pedro Ramos, Noris Plaza, Nelson Pérez, Magaly Novell

A. Introducción	233
B. Brotes en Venezuela de 1937 a 1973	235
1. Antecedentes	235
2. Prevención y control por medio de la vacunación	237
C. El brote en Venezuela en 1995	238
1. Consideraciones sobre la epizootia	240
2. Estrategia de vacunación	241
Referencias.....	242

XV. AVANCES EN EL DESARROLLO DE LA VACUNAS CONTRA LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

George V. Ludwig

A. Vacuna TC-83 contra la EEV. Uso humano	252
B. Vacuna inactivada C-84 contra la EEV. Uso humano	253
C. Otras vacuna contra la EEV disponibles para uso veterinario en los Estados Unidos	253
D. Las nuevas tecnología ofrecen enfoques novedosos para elaborar vacunas contra la EEV	254
E. Ventajas potenciales de vacunas de una "Clona Infecciosa"	258
F. Mutaciones en variantes atenuadas de EEV	259
G. Combinación de mutaciones en un sola vacuna candidata	261
H. Eficacia de las vacunas candidatas contra la EEV en ratones	262
I. Eficacia de las vacunas candidatas de EEV en monos	266
J. Duración de la inmunidad en ratones: Protección	267
K. Resultados de las pruebas de neurovirulencia	269
L. Pruebas de reversión	271
M. Ventajas de la vacuna candidata V3526 sobre la TC-83	271
N. Infecciones de personas por EEV TC-83 en el laboratorio	272
O. Hacia dónde se dirige la investigación	272

XVI. VACUNAS CONTRA LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA.

Diodoro Batalla Campero

A. Introducción	274
B. Encefalitis Equina Venezolana en México, de 1970 a 1974	276
C. Vacunas contra el virus de la EEV.....	277
D. Vacunas de virus inactivado	278
E. Vacunas de virus vivo	279
F. La vacuna contra EEV (TC 83) para uso en humanos no revierte a la patogenicidad al ser empleada en equinos	280
G. Uso de animales de laboratorio en la prueba de potencia de la vacuna contra EEV y la susceptibilidad del hámster	281
H. Métodos <i>in vitro</i> para la titulación del virus de la EEV	281
I. Modificaciones a la fórmula del estabilizador de la vacuna	281
J. Modificaciones en la fórmula del diluyente de la vacuna	282
K. Determinación de la inmunogenicidad de la cepa vacunal de EEV, en tercer pase	282
L. Pruebas de inocuidad y antigenicidad de la vacuna en condiciones de campo	283
M. Desarrollo de una vacuna inactivada de EEV	283
N. Supervivencia del virus de la EEV en lotes de vacuna conservada en refrigeración	284
O. Empleo de bovinos como centinelas de la actividad viral de EEV y algunos aspectos epizootiológicos	284
P. Aislamiento del virus de la EEV a partir de saliva, lágrimas y cerebro de vampiros inoculados experimentalmente	285
Q. Producción a nivel industrial de la vacuna contra la EEV	285
R. Manejo y aplicación de la vacuna	287
Referencias	292

XVII. BASES PARA LA INSTRUMENTACION DE UN SISTEMA DE INFORMACION Y VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LA REGION DE LAS AMERICAS

Alfonso Ruiz, Ismael Zuñiga , Eduardo Alvarez

Introducción	302
Aspectos Generales	303
Vigilancia Epidemiologica - Generalidades.....	304
Elementos para la Vigilancia.....	305
Diagnostico de Laboratorios	313
Sistema de Informacion	315
Referencias Bibliograficas	324
Anexos.....	326

AUTORES

EDUARDO ALVAREZ

Programa de Salud Pública Veterinaria
Representación OPS/OMS en México
Paseo de las Palmas 530 Lomas dde Capultepec, Mexico D.F.
México CP (11000).

DIODORO BATALLA CAMPERO

Centro Nacional de Investigaciones Veterinarias-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Km 15 1/2 carretera México-Toluca, Palo Alto, CP 05110, México, D.F.

CARLOS RAMÓN BUTISTA GARFIAS

Centro Nacional de Investigaciones Veterinarias-Parasitología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Km 11.5 Carr. Cuernavaca-Cuatla, Jiutepec, Morelos, México.

PEDRO FERNANDO DA COSTA VASCONCELOS

Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud en Arbovirosis, Servicio de Arbovirus, Instituto "Evandro Chagas", Fundación Nacional de Salud, Ministerio de Salud, Av. Almirante Barroso, 492, CEP 66065. Belém, Pará, Brasil.

NICOLÁS DEGALLIER

Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud en Arbovirosis, Servicio de Arbovirus, Instituto "Evandro Chagas", Fundación Nacional de Salud, Ministerio de Salud, Av. Almirante Barroso, 492, CEP 66065. Belém, Para, Brasil.

ÁNGEL OMAR FLORES HERNÁNDEZ

Dirección General de Salud Animal, SAGAR, Recreo 14, Colonia Actipan, 03230, México, D.F.

MOISES FRAIRE CACHON

Laboratorio de Alta Seguridad de la Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA). Km. 15.5 Carretera México - Toluca, Palo Alto D. F., 05110, México.

MIGUEL GALLO DE LA TORRE

Centro Nacional de Investigaciones Veterinarias-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Km 15 1/2 carretera México-Toluca, Palo Alto, CP 05110, México, D.F.

GEORGE V. LUDWIG

Division of Virology. United States Army. Medical Research Institute of Infectious Diseases. Fort Detrick, Maryland, Estado Unidos.

GUILLERMINA MADRIGAL AYALA

Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, Carpio 470, Col Santo Tomás, CP 11340, México, D.F.

ARMANDO MATEOS POUMIÁN

Especialista en Salud Animal del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Insurgentes Sur No. 1106, 5^o . Piso, 03100, México

MARCO A. MÉNDEZ OCHOA

Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA). Km 15 1/2 carretera México Toluca, Palo Alto, D.F., 05110, México.

SAMUEL MERCADO SANCHEZ

Centro Nacional de Investigaciones Veterinarias-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Km 15 1/2 carretera México-Toluca, Palo Alto, CP 05110, México, D.F.

ANTONIO MORILLA GONZÁLEZ

Centro Nacional de Investigaciones Veterinarias-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Km 15 1/2 carretera México-Toluca, Palo Alto, CP 05110, México, D.F.

ROBERTO NAVARRO LÓPEZ

Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA). Km 15 1/2 carretera México Toluca, Palo Alto, D.F., 05110, México.

MAGALY NOVELL

Instituto de Investigaciones Veterinarias, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Apdo. 70, Maracay 300, Venezuela.

NORIS PLAZA

Instituto de Investigaciones Veterinarias, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Apdo. 70, Maracay 300, Venezuela.

NELSON PÉREZ

Instituto de Investigaciones Veterinarias, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Apdo. 70, Maracay 300, Venezuela.

PEDRO RAMOS

Instituto de Investigaciones Veterinarias, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Apdo. 70, Maracay 300, Venezuela.

REBECA RICO-HESSE

Yale Arbovirus Research Unit. Department of Epidemiology and Public Health. Yale University School of Medicine. 60 College Street, New Haven, CT 06520-8034, Estados Unidos

VERÓNICA RIVERO LEAL

Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, Carpio 470, Col Santo Tomás, CP 11340, México, D.F.

CARLOS ROSALES ORTEGA

Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México, D. F.

ALFONSO RUÍZ

Programa de Salud Pública Veterinaria. División de Prevención y Control de Enfermedades. Organización Panamericana de la Salud. Washington, D.C. Estados Unidos.

AMELIA PAES DE ANDRADE TRAVASSOS DA ROSA

Centro Colaborador de la Organización Mundial De La Salud en Arbovirosis, Servicio De Arbovirus, Instituto "Evandro Chagas", Fundación Nacional De Salud, Ministerio De Salud, Av. Almirante Barroso, 492, Cep 66090-000. Belém, Pará, Brasil.

JORGE FERNANDO SOARES TRAVASSOS DA ROSA

Centro Colaborador de la Organización Mundial de la Salud en Arbovirosis, Servicio de Arbovirus, Instituto "Evandro Chagas", Fundación Nacional de Salud, Ministerio de Salud, Av. Almirante Barroso, 492, Cep 66090-000. Belém, Pará, Brasil.

JOSÉ LUIS VALDESPINO GÓMEZ

Director de la Revista de Salud Pública de México. Escuela de Salud Pública de México, Av. de las Américas, Cuernavaca, Morelos

CÉSAR VILLARREAL CHÁVEZ

Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA). Km 15 1/2 carretera México Toluca, Palo Alto, D.F., 05110, México.

MARÍA LUISA ZÁRATE AQUINO

Escuela Superior de Enfermería y Obstetricia del Instituto Politécnico Nacional. Carpio y Plan de Ayala, Col. Santo Tomás, D.F. CP 11340, México.

ISMAEL ZUÑIGA

Departamento de Epidemiología. Division de Sanidad Animal.
Instituto Colombiano Agropecuario
Bogotá Colombia.

PROLOGO

En general las epizootias que han azotado a algunos países, suelen dejar tras su paso experiencias desagradables sin embargo, algunas han logrado conjuntar el esfuerzo de grupo de expertos, Instituciones y Organismos abocados a la tarea de vigilar y controlar la diseminación de estas, epidemias, coadyuvando a través del trabajo multidisciplinario el éxito de las campañas establecidas para el control y erradicación de las enfermedades entre países.

La Encefalitis Equina Venezolana, en la actualidad con sus diferentes cepas epizooticas ha sido controlada y en algunos casos erradicada, siendo esto el resultado de años de trabajo, esfuerzo y dedicación de individuos comprometidos con su vocación de servicio.

Esta obra ha tratado de recopilar las experiencias, el esfuerzo y el conocimiento de investigadores Nacionales y extranjeros para controlar y erradicar de una manera consiente basados en investigación de alto nivel una de las enfermedades que logró causar estragos económicos y puso en riesgo la Salud Pública en algunos países de América Latina.

Los editores de esta obra sobre la Encefalitis Equina Venezolana, basados en su experiencia y conocimiento del tema, recopilaron la información de diferentes autores expertos en la materia, de distintos países de las Américas, también incorporaron sus propias experiencias para presentar este documento dividido en capítulos sobre temas específicos. Por lo que se refleja aquí, el esfuerzo realizado por México y otros países de las Américas para controlar y lograr erradicar las cepas epizooticas y reducir así las pérdidas económicas, los problemas de Salud Pública y el reconocimiento de sus estatus por la Oficina Internacional de Epizootias.

M.V.Z. Diego Braña Varela
Director General de Investigación Pecuaria
INIFAP

Introducción

El trabajo dedicado al estudio de las enfermedades de mayor relevancia en México, de sus diferentes formas de transmisión, etiología y formas de control, ha sido y es de suma importancia y los que han dedicado sus vidas a ello merecen todo nuestro reconocimiento. Estando nuestro país ubicado en una zona geográfica tropical, con los modelos ecológicos variados, en general densamente pobladas por muy variadas especies animales y por grupos humanos que comparten diferentes tipos de hábitos, costumbres, y con niveles socio-económicos-culturales en su gran mayoría deficientes, es de esperar que en México predominen enfermedades tropicales. Estos padecimientos pueden ser hídricos, respiratorios, o transmitidos por vectores. Entre estos últimos se encuentra una virosis que actualmente afecta a equinos y seres humanos en una considerable extensión del continente Americano. Originalmente fue descrita en Venezuela, durante un brote importante en equinos y por muchos años fue considerada como problema de ese país, inclusive quedó identificada como Encefalitis Equina Venezolana (EEV).

No fue sino cuando virologos mexicanos buscando la causa de un brote de encefalitis en Champotón, México, demostraron la presencia de anticuerpos contra este virus muy lejos de su reconocido asentamiento geográfico. El hallazgo llamó la atención a otros virologos nacionales e internacionales y el interés que se despertó, permitió identificar en la década de los sesentas la circulación de una cepa endémica, en una extensa zona de las costas del Golfo de México. Esta cepa fue objeto de amplios estudios para conocer especies portadoras, amplificadoras y vectoras del virus.

Al inicio de la década de los setentas ocurrió una amplia circulación de cepas virales de EEV en Centro y Sudamérica. Nuestro país se vio afectado y fuimos testigos de una devastadora epizootia que afectó prácticamente a toda la República, rebasando factores epidemiológicos como humedad, temperatura, altitud, especies vectoras-transmisoras, y a pesar de ser una enfermedad propia de zonas con clima húmedo tropical a nivel de mar, afectó a humanos y equinos en Sonora, Durango e inclusive en la periferia del Distrito Federal.

La profundidad de la investigación dedicada a estos virus ha ido a la par con el desarrollo tecnológico de nuestros tiempos. Actualmente se conoce el genoma viral, se habla del devenir biológico de las variantes, lo que permite predecir futuros cambios en el virus, en sus patrones de propagación, de la necesidad de nuevas vacunas y de estrategias de vacunación. El impacto que ha tenido la EEV en la salud de la población humana y elevada mortalidad de gran proporción de equinos afectados nos obliga a dedicar este libro, a aquellos investigadores interesados en la virología, en la medicina tropical, en la medicina veterinaria, en la biología molecular, en la preparación de vacunas y en particular a los investigadores jóvenes que no fueron testigos de los primeros estudios en México en la década de los sesentas, de la gran epizootia de 1970-72 y de las importantes medidas de control que durante más de 20 años se han mantenido al país libre de brotes de EEV.

En 1991, el INDRE (ML Zárata) reportó el hallazgo diagnóstico de dos casos de infección por EEV en niños del estado de Tabasco, después de 19 años de silencio, seguido del aislamiento de varias cepas virales y de la demostración por igual de anticuerpos en humanos y en varias especies animales. En los años siguientes se han reportado brotes que afectan tanto a equinos como a seres humanos en el estado de Chiapas.

Reunimos nuestros esfuerzos y logramos presentar en este libro, datos publicados en lo que podemos calificar como la "etapa pre-epizootica", datos propios de la epizootia y finalmente lo que en el ámbito del trabajo de campo, de la biología molecular, de las encuestas serológicas, se ha logrado a partir de la década de los ochentas particularmente por investigadores mexicanos.

Los editores

I. INTRODUCCIÓN A LOS ARBOVIRUS QUE CAUSAN ENCEFALITIS

María Luisa Zárate Aquino

A. Introducción	2
B. Morfología y estructura	2
C. Marcadores genéticos de cepas virales	2
D. Replicación viral	3
E. Modelos animales	4
F. Patogénesis	4
G. Manifestaciones clínicas	6
H. Diagnóstico	7
I. Tratamiento	8
J. Ecología	8
K. Historia natural, huéspedes intermediarios y reservorios	8
L. Epidemiología	12
M. Prevención y control	14
N. Profilaxis con vacunas	14
O. Control de vectores	15
P. Control del ambiente	16
Q. Control del huésped	16
R. Conclusiones.....	16
Referencias	17

Abreviaturas:

- EEE = Encefalitis Equina del Este
- EJ = Encefalitis Japonesa
- EEO = Encefalitis Equina del Oeste
- ESL = Encefalitis de San Luis
- EEV = Encefalitis Equina Venezolana
- KFV = Kyasanur Forest Virus
- MVE = Encefalitis del Valle del Murray
- RSSF = Encefalitis Rusa Primavera Verano
- TBE = Encefalitis Tacaribe

A. INTRODUCCIÓN

En las regiones tropicales del Continente Americano, a ambos lados del ecuador, las encefalitis causadas por arbovirus son una verdadera amenaza para el ser humano y para los equinos que ahí habitan. La enfermedad puede ocurrir en forma esporádica, como casos aislados, en forma epidémica o como epizootias.

Los virus que las determinan son de tres géneros: *Alfavirus*, *Flavivirus* y *Bunyavirus*. Sus ciclos biológicos comprenden a un vector transmisor invertebrado: mosquitos o garrapatas, y a los amplificadores vertebrados mamíferos ya sean animales domésticos o silvestres y algunas aves. Los casos son por lo general diagnosticados por pruebas serológicas en una o dos muestras. El manejo médico es hasta la fecha de soporte e inespecífico. La prevención y el control están limitados a medidas contra el vector y se cuenta con muy pocas vacunas (1).

B. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA

Hay más de 500 arbovirus registrados y solamente algunos causan encefalitis en los seres humanos; están actualmente clasificados en dos familias y tres géneros: *Togaviridae*, que incluye a algunos *Alfavirus* y *Flavivirus* y *Bunyaviridae*, que incluye a algunos *Bunyavirus* (2,3).

C. MARCADORES GENÉTICOS DE CEPAS VIRALES

Los alfavirus y flavivirus cambian genéticamente por mutación en sus moléculas de ARN y no se ha descrito que ocurra recombinación entre moléculas del ARN durante el ensamblaje de estos virus en las células infectadas.

Los cambios genéticos de los bunyavirus pueden ocurrir por mutación o por reordenamiento de las moléculas de ARN del virión, conforme la progenie se ensambla en las células infectadas en forma simultánea por dos diferentes bunyavirus.

El virus de la EEV, un alfavirus, es el que mejor ejemplifica las variaciones genéticas presentes dentro de la población natural de un virus.

Los marcadores biológicos y químicos característicos que han sido utilizados para distinguir entre las diferentes cepas (aislamientos) del virus de la EEV, se presentan en el Cuadro 1.

Los marcadores basados en virulencia para el ratón y para los monos, la viremia en aves y la técnica de mapeo de oligonucleótidos del ARN, han servido recientemente para identificar y distinguir diferentes cepas del virus de la encefalitis de San Luis (ESL) (4,5,6).

D. REPLICACIÓN VIRAL

Al igual que con otros virus, la replicación de los alfavirus, flavivirus y bunyavirus estudiada en células de artrópodos y de huéspedes vertebrados, incluye todas las etapas como son la adsorción, penetración, desdovoltura, transcripción del ácido nucleíco, traducción, ensamble de viriones y salida de la célula huésped (7).

Producen efecto citopático en los cultivos de células de vertebrados infectadas con estos virus, aunque algunas veces no se observan cambios citopáticos en las células de mosquito infectadas *in vitro*.

La adsorción de alfa y flavivirus resulta de la reacción entre moléculas presentes en la superficie del virión, con moléculas receptoras en la membrana plasmática de la célula huésped.

La penetración ocurre porque hay fusión de los viriones con las membranas plasmáticas y en algunas células, también por fagocitosis. No se conoce bien como inician los bunyavirus la infección; si es que hay receptores específicos del huésped, o si es por adsorción y si la penetración involucra fagocitosis o fusión con la membrana plasmática (8).

El detalle de la desdovoltura no está muy bien definida para los arbovirus de la encefalitis en células de artrópodos o de vertebrados. Para los alfavirus y los flavivirus, la transcripción de la molécula de ARN de cadena sencilla positiva (ARNcs) no segmentada, con una molécula por virión, ocurre en forma estandarizada. Se produce una forma replicativa de ARN de doble cadena, por procesos que involucran transcriptasas (ARN polimerasas) formadas poco después de la infección de la célula por traducción del virión parental; las moléculas de ARN funcionan como un mensajero ARN negativo.

El ácido nucleíco de los bunyavirus no es un mensajero negativo; son ARNcs con tres moléculas o segmentos por virión. Probablemente hay un ARN-dependiente ARN polimerasa en el virión infectante, que transcribe la cadena sencilla negativa de ARN en una doble cadena intermediaria, antes de la formación de cadenas negativas de progenie.

Las proteínas virales se forman por traducción de moléculas de ARN mensajero. La transcripción y traducción en los alfavirus, flavivirus y bunyavirus aparentemente ocurre en el citoplasma de las células de los vertebrados infectados, pero puede que haya un efecto nuclear en el curso de estas actividades, puesto que ocurren cambios en la cromatina nuclear de las células infectadas por alfavirus (9).

El ensamble de la progenie de la nucleocápside del virión ocurre en el citoplasma de las células de los vertebrados, e involucra al aparato de Golgi. Las nucleocápsides de los alfavirus después migran hacia la membrana plasmática y emergen por áreas modificadas de la membrana plasmática, para adquirir en esta forma la envoltura del virión y luego abandonan las células.

El proceso es un tanto diferente para el virus de la encefalitis Japonesa (EJ) (10), un flavivirus, que cuando se cultiva en células de vertebrados se muestra primero morfológicamente en cisternas del retículo endoplásmico y después en el aparato de Golgi; posteriormente el virus sale de las células por exocitosis (11).

La morfogénesis de las partículas de los bunyavirus probablemente ocurre por ensamble y brote en cisternas dentro del aparato de Golgi (8). En células cultivadas de mosquitos de *Aedes albopictus*, los alfavirus maduran en vesículas citoplásmicas, pero no es seguro que el virus brote por la membrana plasmática (12).

E. MODELOS ANIMALES

Para ser un modelo válido, el animal infectado debe desarrollar encefalitis como resultado de la inoculación cutánea del virus en estudio (puerta de entrada natural de estos virus a partir de la picadura de mosquitos o de garrapatas).

El cobayo, el hámster sirio y el ratón albino lactante son modelos para el virus de la EEV y el ratón lo es para otros virus, como el de la encefalitis de San Luis, de la selva Kyasanur, de la encefalitis del valle del Murray, del Oeste del Nilo, y para algunas cepas del virus de la encefalitis Japonesa que no circulan en el continente Americano (13).

F. PATOGÉNESIS

La patogénesis de las encefalitis causadas por arbovirus en el ser humano, o en otros huéspedes animales, se inicia con la entrada del virus por la piel después

de la picadura de mosquitos o de garrapatas. La transmisión de la EEV por contacto directo, se ha demostrado entre roedores expuestos a la orina infectada o a secreciones faríngeas (26), pero no hay evidencia de diseminación por aerosol de este virus entre personas o en equinos, aún cuando el virus se ha encontrado en sus secreciones faríngeas, probablemente porque la concentración del virus en estos sitios es muy baja.

Los arbovirus después se replican lentamente en el sitio de entrada, en la piel, y se diseminan por los linfáticos y vasos sanguíneos a otros tejidos, donde se multiplican en varios tipos de células, tales como las células hematopoyéticas (EEV) o en células multinucleares y en el tejido conectivo (ESL) (14). En un día, la replicación viral produce suficientes viriones en estos sitios y el virus infeccioso se encuentra en la sangre (viremia). En este momento, no ocurre todavía la enfermedad, o ésta se limita a fiebre y síntomas generales, tales como dolor muscular y fatiga.

La respuesta inmune a los arbovirus que producen encefalitis en vertebrados, es principalmente humoral. La producción de anticuerpos comienza inmediatamente después del contacto del antígeno viral con los linfocitos y, generalmente para el cuarto a quinto día después de la inoculación viral, ya hay anticuerpos neutralizantes en concentración suficiente en la sangre como para eliminar al virus infeccioso extracelular. La respuesta celular no parece ser el componente principal de la reacción inmune en la infección de los vertebrados con alfavirus, flavivirus o bunyavirus.

Si la viremia termina antes de que el virus penetre al cerebro o antes de que pueda replicarse en suficientes células cerebrales, la infección va a ser asintomática o simplemente febril generalizada, sin encefalitis. Los mecanismos de entrada del virus al cerebro no están bien definidos. Sin embargo, se sabe que los alfavirus, flavivirus y bunyavirus, causan encefalitis por efectos directos citopatogénicos en las células del cerebro y no por la formación de complejos inmunes antígeno-anticuerpo. La replicación viral en el cerebro es suprimida por anticuerpos del suero y por linfocitos en el sistema nervioso central (SNC). Hay dos procesos patológicos comunes en las encefalitis por arbovirus:

1. Daño neuronal y glial mediado por infección intracelular.
2. Migración de células inmunológicamente activas en el espacio perivascular y parénquima cerebral, con células endoteliales con edema, vasculitis y destrucción de la mielina en lo profundo de la materia blanca.

G. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los arbovirus de la encefalitis pueden producir enfermedad en algunos vertebrados, pero no son peligrosos para sus vectores invertebrados. En los trópicos, la encefalitis en humanos puede ser el resultado de una infección con alguno de los virus listados en el Cuadro 2 y, la encefalitis en equinos (caballos, burros y mulas) puede ocurrir como resultado de una infección por los virus de las encefalitis EEV, EEO y EEE en el continente Americano y de la del oeste del Nilo y Japonesa (EJ) en otros continentes (Cuadro 3). El aborto es frecuente en cerdos infectados con el virus de la EJ. En los trópicos, los vertebrados silvestres cuando son infectados con estos virus (aves y roedores) no mueren de encefalitis. Las infecciones en humanos y en equinos, por arbovirus causantes potenciales de encefalitis, pueden resultar en:

1. Enfermedad febril benigna generalizada.
2. Meningitis aséptica
3. Meningoencefalitis
4. Encefalitis

Estos síndromes no son distinguibles clínicamente de los determinados por otros agentes virales.

Hasta ahora no se ha explicado el por qué ciertos huéspedes desarrollan enfermedad, en tanto que otros se infectan en forma inaparente y el porqué los arbovirus de la encefalitis, producen lesiones en el cerebro y el SNC y no en otros tejidos del cuerpo.

Las manifestaciones clínicas de la encefalitis en los seres humanos comúnmente incluyen: fiebre, cefalea, mareo y algunas veces vómito, rigidez de nuca, temores, confusión mental y convulsiones.

La parálisis de las extremidades es muy rara. Los equinos tienen fiebre, temores, pérdida de la coordinación, caminar en círculos y algunas veces convulsiones y ceguera.

Los arbovirus de la encefalitis pueden causar enfermedades esporádicas en los seres humanos; se han descrito epidemias asociadas a los virus de la EEE, Rocío, ESL, EEV, EEO, EJ, KFD y MVE (Cuadro 2).

Los casos esporádicos de encefalitis por arbovirus son difíciles de diagnosticar y deben ser diferenciados de otras encefalitis causadas por herpesvirus, enterovirus, sarampión, parotiditis y varicela.

Algunos de estos virus han mostrado una alta letalidad en los seres humanos. De 1955 a 1971 en los Estados Unidos murieron cerca del 8% de los casos de ESL, el 3% de los casos asociados con el virus de la EEO y el 50% de los casos por EEE (15). Durante un gran brote de EEV en Venezuela al inicio de 1960, las muertes ocurrieron en el 10% de los casos humanos con síntomas neurológicos (16) y la tasa de letalidad por el virus de la EJ ha variado del 30 al 50%.

H. DIAGNÓSTICO

Las encefalitis causadas por arbovirus son diagnosticadas en forma definitiva por la demostración de un aumento en el título de anticuerpos específicos en el suero, o por el aislamiento del virus a partir de tejido cerebral y sangre durante la fase aguda.

La elevación del título de anticuerpos específicos en el suero puede ser medida por métodos estandarizados de inhibición de la hemaglutinación (IH), por fijación del complemento (FC), por neutralización del virus (N) y por ensayo inmunoenzimático (ELISA).

Las reacciones cruzadas que aparecen en estas pruebas ocurren especialmente entre los flavivirus y por lo tanto el virus que generó estos anticuerpos es difícil de identificar. La concentración de anticuerpos puede llegar a ser muy elevada al inicio de la enfermedad en pacientes con encefalitis, que en ocasiones no puede demostrarse elevación en una segunda muestra. En tales casos, la única forma de hacer el diagnóstico es determinando la presencia de anticuerpos de la clase IgM.

Puesto que la fase virémica de la infección termina antes que se desarrollen los síntomas clínicos, los arbovirus causantes de encefalitis no son fáciles de aislar a partir de muestras de sangre. El tejido cerebral generalmente contiene virus si la muerte ocurre entre los 10 a 12 días del inicio de la enfermedad. El LCR rara vez contiene virus detectable. Cuando la enfermedad se prolonga más tiempo, el virus con frecuencia ya no persiste en niveles detectables en el cerebro puesto que la réplica viral ha cesado en el SNC.

Los arbovirus que causan encefalitis pueden ser aislados a partir de tejidos, por inoculación de ratones albinos recién nacidos, por inoculación de otros vertebrados, o por inoculación de células de mosquitos en cultivo como la C6-36, clona de tejido larvario de *Aedes albopictus* y TRA. También se ha empleado la línea Vero de mono verde africano. Los arbovirus encefalitógenos producen la muerte en los ratones inoculados y necrosis en las células en cultivo. Las placas de virus ocurren si las células se mantienen bajo un medio nutritivo sólido.

Los especímenes clínicos también pueden ser inoculados por vía intratorácica en mosquitos mantenidos en el laboratorio, los que son posteriormente incubados durante un tiempo suficiente para permitir la réplica del virus. El virus se demuestra en los tejidos de estos mosquitos por inmunofluorescencia y por FC utilizando sueros específicos.

Para identificar a un aislamiento de arbovirus, puede investigarse su patogenicidad para el ratón, o para varios cultivos celulares y ser neutralizado en forma específica con anticuerpos virales de preferencia monoclonales conocidos.

I. TRATAMIENTO

Actualmente no existe ningún medicamento disponible para el tratamiento específico de las encefalitis por arbovirus. El manejo clínico es por tanto sintomático y de soporte. Puesto que la viremia ha terminado para el momento en que se desarrollan las manifestaciones clínicas, la sangre del paciente no es infecciosa ni peligrosa para el personal del hospital y no sirve como fuente de virus para las poblaciones de mosquitos que puedan haber en el ambiente. Aunque el virus de la EEV existe en la faringe de los enfermos, la transmisión de la EEV por aerosol entre pacientes y el personal del hospital no ha ocurrido, pero debe señalarse que las secreciones faríngeas y los objetos que están en contacto con ellas pueden ser infecciosos, por lo que hay que proteger al personal del hospital y a los contactos familiares, de la posible infección con secreciones y abrasiones de la piel.

J. ECOLOGÍA

Las encefalitis por arbovirus son zoonosis porque ellas son causadas por virus transmitidos a los seres humanos a partir de vertebrados inferiores (2,17). La transmisión de arbovirus que causan encefalitis en las regiones tropicales ocurre por la picadura de mosquitos o garrapatas infectadas.

K. HISTORIA NATURAL, HUÉSPEDES INTERMEDIARIOS Y RESERVORIOS

Los vectores de los arbovirus de la encefalitis son mosquitos (artrópodos con cabeza, tórax y abdomen separados y con tres pares de patas cuando son adultos) o por garrapatas, las cuales son arácnidos (artrópodos con una cabeza fusionada al tórax, abdomen y con cuatro pares de patas cuando son adultos). Los géneros de mosquitos y de garrapatas vectores de virus de la encefalitis

encontradas con más frecuencia aparecen en el Cuadro 3. Las hembras son transmisoras del virus cuando pican para obtener la sangre necesaria para el desarrollo de sus huevecillos.

Los mosquitos vectores pueden diseminar a los arbovirus de la encefalitis por extensiones considerables y más rápidamente que las garrapatas vectoras puesto que los mosquitos vuelan y las garrapatas no. Sin embargo, las garrapatas pueden sostenerse en la piel de sus huéspedes vertebrados y consecuentemente mover un arbovirus más allá de la posibilidad natural de una garrapata.

La historia natural y el camino de los arbovirus que causan encefalitis en los seres humanos, en regiones tropicales, se muestran en el Cuadro 4. En un ciclo, el virus es intercambiado horizontalmente entre huéspedes vertebrados amplificadores silenciosos y vectores (Ciclo A). O entre vectores y huéspedes vertebrados amplificadores enfermos (Ciclo B).

En el otro camino horizontal, el virus es pasado en una dirección de un vector a un huésped silencioso, o un vertebrado enfermo mortalmente (Ciclo C y D).

El paso vertical de algunos arbovirus de la encefalitis ocurre por vía transovárica de una generación de artrópodos a otra (Ciclo E).

Los Ciclos A y algunas veces B y E, son importantes para mantener a los arbovirus de la encefalitis en la naturaleza. Estos son llamados endémicos o enzoóticos.

Los Ciclos A y B y algunas veces los C y D ocurren durante epidemias y epizootias y los A y B son importantes para amplificar la cantidad de virus en la población de vectores artrópodos (7).

El término "amplificador" (huésped vertebrado) se refiere a un vertebrado que desarrolla viremia por varios días durante una infección a partir de la picadura de un artrópodo infectado. Posteriormente es picado por numerosos artrópodos para aumentar el número de artrópodos vectores infectados. Con que ocurran en la naturaleza varios de estos ciclos, se alcanzan altas densidades de artrópodos vectores infectados en áreas geográficas limitadas, resultando en la transmisión frecuente del virus a los seres humanos y a los animales y por tanto, hay ocurrencia de epidemias y/o epizootias.

Los atributos importantes de los huéspedes vertebrados amplificadores son:

- 1. Las viremias son lo suficientemente altas como para infectar a los vectores artrópodos.**
- 2. Los huéspedes son picados frecuentemente por los vectores.**
- 3. Los huéspedes son abundantes.**
- 4. Las poblaciones de huéspedes tienen un ciclo rápido (alta reproducción y corta vida) como para proveer nuevos animales, susceptibles a la infección por el virus.**

El vocablo "huésped terminal" se refiere a los vertebrados infectados que no reciclan al virus hacia un vector artrópodo. Estos animales tienen viremias bajas (factores 2, 3 y/o 4) y limitan el regreso del virus, del vertebrado, a un vector.

Existen varios factores entre los vectores amplificadores, huéspedes y mosquitos vectores, que contribuyen al éxito en los ciclos de los arbovirus de la encefalitis, a saber:

- 1. Las barreras intestinales para la infección y la transmisión del virus por mosquitos.**
- 2. Los niveles de viremia y su duración en huéspedes vertebrados.**
- 3. La distribución geográfica y ecológica de especies vectoras de mosquitos.**
- 4. El tamaño de la población de mosquitos.**
- 5. Los hábitos de alimentación de los mosquitos.**
- 6. El rango de vuelo de los mosquitos.**
- 7. La distribución geográfica y ecología de los huéspedes vertebrados.**
- 8. El tamaño de las poblaciones de los vertebrados.**
- 9. Los índices de sobrevivencia de la población de vertebrados (para proveer de nuevos huéspedes susceptibles al virus).**

10. La disponibilidad de los vertebrados para ser picados por los mosquitos, la que depende de factores tales como:

- a. Actividades terrestres o arbóreas.**
- b. Lo descubierto de la piel (si hay pelo, plumas).**
- c. Tipo de actividad, diurna o nocturna.**
- d. Movimientos del huésped durante el ataque de los mosquitos.**

11. Medio ambiente: clima, estaciones del año, incluyendo temperatura, humedad, lluvia, duración de luz diurna, presión barométrica, flora y fauna.

12. Diferencias entre cepas de virus, subtipos y variedades.

Los reservorios de los arbovirus de la encefalitis en las regiones tropicales son suficientes para mantener sus ciclos biológicos. Sin embargo, en regiones templadas y en zonas árticas, el concepto de reservorio incluye al fenómeno de "hibernación".

Los ciclos de amplificación de los arbovirus de la encefalitis entre vectores y vertebrados cesan durante los meses de invierno, cuando los artrópodos sobreviven como huevecillos, formas inmaduras, o adultos que invernan.

Algunos huéspedes vertebrados hibernan o migran como las aves de zonas frías que emigran a climas más benignos. Los mecanismos de invernación de los arbovirus de la encefalitis no son del todo comprendidos (18).

Un mecanismo vertical de sobrevivencia es por la transmisión transovárica de los mosquitos, que ocurre en las regiones templadas de Norteamérica (19) y de las garrapatas que transmiten flavivirus por picadura en América, Europa y Asia (20,21,22,23).

Algunos flavivirus y otros bunyavirus han sido transmitidos transováricamente en mosquitos en experimentos de laboratorio. Los alfavirus de la encefalitis transmitidos por mosquitos no han podido ser transmitidos por vía transovárica en el laboratorio.

Son poco numerosas las especies de mosquitos o de garrapatas que participan en los ciclos naturales de los arbovirus de la encefalitis y en general, las especies transmisoras son diferentes para cada virus. En forma similar, los huéspedes vertebrados difieren entre los arbovirus de la encefalitis (Cuadro 3).

Además, las especies de mosquitos que sirven como vectores y los vertebrados que funcionan como huéspedes amplificadores en episodios de epidemias y epizootias, pueden ser diferentes de aquellas que funcionan durante ciclos interepidémicos o de mantenimiento de endemia-enzootia. Un arbovirus de la encefalitis tropical que ejemplifica esta situación es el alfavirus de la EEV. Al presente, se sabe que hay dos formas de ciclos naturales para este virus, el endémico-enzoótico y el epidémico-epizoótico. Estos ciclos son distintos porque:

1. Involucran a diferentes especies de mosquitos como vectores.
2. Algunos huéspedes vertebrados se limitan y conforman un sólo ciclo .
3. En los ciclos de epidemia-epizootia, la enfermedad ocurre entre equinos y hay mayor número de casos de enfermedad entre los seres humanos, que en los ciclos endemo-enzoóticos
4. La ecología de estos dos ciclos son diferentes. Los ciclos endémico-enzoótico ocurren en pantanos y selvas vírgenes y los ciclos epidémico-epizoóticos se dan generalmente en regiones secas, que regularmente se consideran libres de actividad del virus de la EEV. Los componentes de estos dos ciclos naturales de la EEV aparecen en el Cuadro 5.

L. EPIDEMIOLOGÍA

Las epidemias asociadas con los arbovirus de la encefalitis se desarrollan en regiones tropicales, donde las poblaciones de vectores y de huéspedes amplificadores susceptibles son grandes y están en contacto muy cercano. Generalmente las epidemias ocurren en localidades que son normalmente secas, áridas y libres de actividad viral y, por tanto, pueden acumularse poblaciones abundantes de huéspedes susceptibles con riesgo potencial de enfermar. Cuando un arbovirus de la encefalitis invade estas regiones tropicales, puede formar un foco enzoótico cercano o en proximidad a una selva o a un pantano, en donde el virus puede comenzar un ciclo entre vertebrados y mosquitos vectores, si el agua de lluvia o la irrigación artificial ha formado criaderos acuáticos para el desarrollo de mosquitos.

Las epidemias de arbovirus asociadas con encefalitis en los trópicos, no son siempre el simple escape del virus de los ciclos de mantenimiento en hábitats enzoóticos, hacia regiones que pueden soportar ciclos de epizootias.

Se ha podido observar con el virus de la EEV que las cepas virales que existen en cercos enzoóticos son relativamente benignas para los equinos, en tanto que las cepas aisladas en epidemias y epizootias equinas son altamente virulentas (24).

Es probable que pueda ocurrir algún cambio en la virulencia de las cepas de la EEV que provienen de un hábitat enzoótico, pudiendo causar una epidemia y epizootia equina (25).

Otro problema sin resolver en la epidemiología de la encefalitis por arbovirus es el relativo al movimiento del virus de una región a otra. Este fenómeno que ocurre en el trópico durante epidemias, está bien establecido y fue claramente ejemplificado por la movilización del virus de la EEV de 1969 a 1971, cuando se desplazó de su sitio original en la frontera de Guatemala con El Salvador, a otros países Centroamericanos, a México y hasta el sur de Texas en los Estados Unidos, que no puede explicarse simplemente por el acarreo de equinos.

Un arbovirus que causa encefalitis puede ir de un lugar a otro en huéspedes infectados que se arrastran, caminan o vuelan, o puede ser transportado por vehículos que cursan por tierra, mar o aire. Es fácil ver el movimiento relativamente de corto alcance, en mosquitos infectados y el más corto que se da en garrapatas infectadas.

Algunos huéspedes vertebrados como el hombre o los equinos pueden caminar hasta 10 km o más; algunos animales pequeños silvestres o domésticos tales como perros, cerdos, ratas o armadillos entre otros pueden moverse en rangos de menos de 10 km.

Los vertebrados que vuelan tales como algunas especies de aves y murciélagos, pueden en teoría mover a un arbovirus durante ciclos de viremia, en distancias promedio de 10 km y aunque algunas especies de murciélagos migran alrededor de 21,000 km, no se sabe que sean vectores en el trópico. Algunos arbovirus asociados con encefalitis han sido encontrados en la sangre de aves que migran y surcan muchos miles de kilómetros en pocos días, tiempo en el que un virus puede persistir en su sangre. Infectan en forma natural a las aves y se conocen como virus de la EEE, EEO, ESL, EJ, MVE y EEV. La amplia distribución de algunos de estos virus en zonas tropicales y templadas, pueden explicarse dentro de los movimientos migratorios de las aves. La movilización a grandes distancias de los arbovirus de la encefalitis transmitidos por garrapatas, que parasitan aves, puede también ocurrir cuando éstas ya infectadas, quedan adheridas firmemente en la piel de las aves durante la migración.

Además, los arbovirus de la encefalitis, en huéspedes infectados, pueden viajar en aviones o en automóviles. Los aviones pueden mover virus por muchos miles de kilómetros en vuelos intercontinentales, ya sea en personas, en mosquitos, en garrapatas o en equinos infectados.

Los arbovirus de la encefalitis también pueden moverse de una región a otra por el uso de una vacuna inactivada en forma insuficiente, que contenga virus patógeno, que infecta a nuevos huéspedes al vacunar a numerosos animales y que, durante la viremia posvacunal, son picados por mosquitos que más tarde la transmiten a otros animales.

M. PREVENCIÓN Y CONTROL

La historia natural de los arbovirus de la encefalitis indican que las medidas de prevención y de control en teoría pueden ser dirigidas ya sea al vector invertebrado, o a los huéspedes vertebrados, o a ambos.

N. PROFILAXIS CON VACUNAS

Las epidemias de encefalitis por arbovirus desde luego pueden desaparecer si todas las personas potencialmente susceptibles de enfermar, pudieran ser inmunizadas con vacunas. Esto ha sido un método impráctico por muchas razones, pero principalmente porque las epidemias por arbovirus son con frecuencia impredecibles y es difícil definir a la población humana que debe ser inmunizada. A la fecha, la única encefalitis por arbovirus que cuenta con vacuna, y que ha sido usada para inmunizar a numerosas personas es la del virus de la Encefalitis Japonesa (25). Se han usado en ciertas condiciones las vacunas inactivadas para la EEE y EEO y una de virus atenuado para la EEV. Estas vacunas están disponibles para inmunizar al personal de laboratorio que está en riesgo de infectarse por inoculación accidental o por aerosoles.

Las vacunas también son usadas para inmunizar a equinos. La población equina que requiere de vacunación contra los arbovirus de las diferentes encefalitis equinas son más fáciles de definir que las poblaciones humanas. Así, los equinos pura sangre son vacunados sistemáticamente contra los alfavirus de la EEE, EEO y EEV, al igual que todos los equinos residentes de áreas identificadas como endémicas.

Las vacunas inactivadas en teoría son inadecuadas para prevenir la encefalitis en las personas durante brotes de encefalitis equina, porque el virus ya ha sido

dispersado entre la población antes de que alcancen a desarrollar anticuerpos protectores. En contraste, las vacunas vivas atenuadas pueden estimular la producción de anticuerpos en pocos días y además pueden inducir la producción de interferón aún antes de que produzcan anticuerpos. La vacuna contra la EEV, ha demostrado ser excelente para proteger a los equinos cuando se ha administrado durante los brotes.

Las personas que quedan accidentalmente expuestas al virus en el laboratorio, por lesión de la piel con agujas contaminadas, pueden ser inmunizadas en forma pasiva con sueros que contienen altos títulos de anticuerpos. Con esto se previene la enfermedad, o se atenúa el curso de la misma.

O. CONTROL DE VECTORES

Durante las epidemias de arbovirus complicadas con encefalitis, puede intentarse el control de las poblaciones de mosquitos adultos rociando insecticidas desde aeroplanos y camiones. Estas medidas de control son costosas y con frecuencia no son efectivas pues se inician demasiado tarde en el curso de brotes. Hay métodos más efectivos aplicables a ambientes urbanos y rurales y resultan más económicas que el rociar en la selva y en grandes extensiones de pantanos.

El uso de tela de alambre en las casas, o de mosquiteros para prevenir el contacto con los mosquitos, el cubrir la piel con ropa y la aplicación de repelentes para evitar la picadura, son medidas preventivas adicionales bastante efectivas.

Debido a que algunos insecticidas tienen efectos indeseables en las personas y en los animales, a que los mosquitos han desarrollado resistencia hacia algunos químicos y a lo costoso de estos programas, se han intentado recientemente procedimientos biológicos como son los peces que comen larvas de mosquitos, larvas carnívoras de otras especies de mosquitos que se alimentan de larvas de especies vectoras, o implantando microorganismos que son letales para los mosquitos.

Existe el peligro potencial de que estos agentes biológicos afecten a la fauna benéfica, o que produzcan enfermedades en el hombre y/o sus animales domésticos. Los procedimientos de control por procedimientos genéticos están bajo ensayo. Un avance es el empleo de machos radiados y esterilizados, que son soltados en poblaciones naturales y al final, las hembras no son fertilizadas.

P. CONTROL DEL AMBIENTE

En las zonas tropicales existe el peligro de que las encefalitis en humanos causadas por arbovirus, puedan aumentar en frecuencia como resultado de los cambios ecológicos que suele experimentar una región. Por ejemplo, el desarrollo suburbano en la periferia de pantanos, puede llevar a las personas a estar en contacto cercano con los mosquitos vectores; o el uso de regiones selváticas para propósitos comerciales o de recreación, en donde pueden las personas entrar en contacto con especies vectoras. Los cambios climáticos acompañados de intensas lluvias que determinan inundaciones y movilización de reservorios de su lugar habitual a otras áreas vecinas libres de actividad viral, pueden acompañarse de brotes de encefalitis.

Los campos y los frutos de la siembra pueden proveer de suficiente comida y sostener a grandes poblaciones de aves o de roedores silvestres, los que pueden actuar localmente como amplificadoras de virus de encefalitis. Los sitios de agua que sirven como criaderos para mosquitos, algunas veces aparecen como resultado de prácticas industriales locales, de agricultura, o por la mayor intensidad de las lluvias.

Q. CONTROL DEL HUÉSPED

La inmunización de los animales silvestres que sirven como amplificadores de los arbovirus de la encefalitis es impracticable; se requerirá de procedimientos de captura y vacunación de cada huésped. Sin embargo, los animales domésticos (cerdos en el caso de la EJ, caballos en el caso de la EEV) pueden ser inmunizados para removerlos de la naturaleza como amplificadores efectivos del virus, antes o durante las epidemias.

La erradicación de los amplificadores vertebrados silvestres como las aves, es imposible de realizar como un método de control de la EEV y además es indeseable.

R. CONCLUSIONES

La encefalitis por arbovirus permanece como un problema que va a ser controlado en forma incompleta en los trópicos y en otras regiones del mundo, hasta que la historia natural y la ecología de los virus causales sean entendidas en forma completa; hasta entonces podrán desarrollarse las verdaderas medidas de control que rompan ciclos naturales del virus, antes que estos alcancen al hombre y a sus animales para causarles enfermedad y eventualmente la muerte.

REFERENCIAS

1. Berge T.O. (ED): International Catalogue of Arboviruses. 2nd ed. Atlanta, US Dept. of Health Education and Welfare. Center for Disease Control, 1975
2. Shope R.E.: Arbovirus-related encephalitis. *Yale Biol. Med.* 53:93-99, 1980.
3. Monath T.P. (ed.). The Arboviruses: Epidemiology and Ecology. Boca Raton, CRC Press, 1988.
4. Trent D.W., Clewley J.P., France Jf. K.: Immunochemical and oligonucleotide fingerprint analysis of Venezuelan equine encephalomyelitis complex viruses. *J Gen. Virol.*, 43:365-381, 1979.
5. Monath T.P., Cropp C.B., Bowen G.S.: Variation in virulence for mice and rhesus monkeys among St. Louis encephalitis virus strains of different origin. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29:948-962, 1980.
6. Trent D.W., Grant J.A., Vorndam A.V.: Genetic heterogeneity among Saint Louis Encephalitis virus isolates of different geographic origin. *Virology*, 114:319-332, 1981.
7. Monath T.P.: Arthropod-borne encephalitis in the Americas. *Bull. W.H.O.*, 53:513-533, 1979.
8. Bishop D.H.L.: Shope R.E.: Bunyaviridae, En: Fraenkel-Conrat H. *et al* (eds). *Comprehensive Virology*, Vol. 14. New York, Plenum. 1979.
9. Pruslin F.H., Rodman T.C.: Venezuelan encephalitis virus. *In vivo* introduction of a chromosomal abnormality in hamster bone marrow cells. *Infect. Immun.*, 19:1104-1106, 1978.
10. Monath T.P.: Japanese encephalitis. A plague of the Orient (editorial)., *N. Engl. J. Med.*, 319(10):641-643, 1988.
11. Leary K, Blair C.D.: Sequential events in the morphogenesis of Japanese encephalitis virus. *J. Ultrastruct. Res.*, 72:123-129, 1980.
12. Stollar V., Harrap K., Thomas V.: Observations related to cytopathic effect in *Aedes albopictus* cells infected with Sindbis virus. En, Kurstak E. (ed). *Arctic and Tropical Arboviruses*, New York. Academic, 1979.

13. Scherer W.F., Chin J.: Responses of guinea pigs to infections with strains of Venezuelan encephalitis virus, and correlations with equine virulence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26:307-312, 1977.
14. Murphy F.A.: Morphology y Morphogenesis, En. Monath T.P. (ed). St. Louis Encephalitis. Washington. D.C., Am. Pub. Health. Assoc., 1980.
15. MCGowan J.E., Bryan J.A., Gregg M.B.: Surveillance of arboviral encephalitis in the United States, 1955-1971. *Am. J. Epidemiol.*, 97:199-207, 1973.
16. Sellers R.F., Bergold G.H., Suarez O.M.: Investigations during Venezuelan equine encephalitis outbreaks in Venezuela 1962-1964. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14:460-469, 1965.
17. Workshop-Symposium on Venezuelan encephalitis virus. Pan. Am. Health Organ. Sci. Pub. No. 243, 1972.
18. Reeves W.C.: Overwintering of arboviruses. *Prog. Med. Virol.*, 17:193-220, 1974.
19. Hardy J.L., Winkelstein W. Jr., Milby M.M. (eds.): Symposium on The epidemiology of mosquito-borne virus encephalitis in the United States, 1943-1987. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 37:1S-100S, 1987.
20. Wiebe M.E., Scherer W.F.: Virion envelope glycoproteins as epidemiological markers of Venezuelan encephalitis virus isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 11:349-354, 1980.
21. Scherer W.F., Kitaoka M., Okuno T.: Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan. VII. Human infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8:707-715, 1959.
22. Srihongse S., Albanese M., Casals J.: Characterization of Thogoto virus isolated from ticks (*Rhipicephalus bursa*) in western Sicily, Italy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23:1161-1164, 1974.
23. Holmgren E.B., Forsgren M.: Epidemiology of tick-borne encephalitis in Sweden 1956-1989: A study of 1116 cases. *Scand. J. Infect. Dis.*, 22(3):287-295, 1990.

24. Young N.A., Johnson K.M.: Antigenic variants of Venezuelan Equine Encephalitis virus: Their geographic distribution and epidemiologic significance. *Am. J. Epidemiol.*, 89:286-307, 1969.
25. Jahrling P.B., Eddy G.A.: Comparisons among members of the Venezuelan encephalitis virus complex using hydroxylapatite column chromatography. *Am. J. Epidemiol.*, 101:408-417, 1977.
26. Zárate M.L., Scherer W.F.: Contact spread of Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus among cotton rats via urine of feces and the naso or oropharynx. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 17(6): 894-899, 1968.

CUADRO 1. PROPIEDADES DE LOS VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (1982)

Fuente epidemiológica	Natural					Marcadores comunes				
	Distribución geográfica			Virulencia para		IH subtipos antigénicos (2,3,4)	Tamaño de placas Vero (3)	pH óptimo de HA (3)	Glicoproteínas en virión (6)	
Sur y Norteamérica	Centroamérica	Florida, Estados Unidos	Brasil, Trinidad, Guyana	Humano	Equino					Hámster
Epidémica	+				+	+	Pequeñas	5,8/6,2	3	
Epizootica	+	+++			+	+	Pequeñas	5,8/6,2	3	
Endémica	+	+			+	7	Grandes	6,0/6,4	2	
Enzootica		+		+	+	+/-	Grandes	6,0/6,4	2	
			+		+	-	Grandes	5,8/6,2	3	
				+	+	-	Pequeñas	5,8/6,3	2	
				+	-	-	Pequeñas		2	

IH = Inhibición de la hemaglutinación. HA = Hemaglutinación.

** De 1969 a 1971 y en el sur de Texas en 1971

CUADRO 2a. VIRUS CON CICLO DE ARTRÓPODO QUE CAUSAN INFECCIÓN AGUDA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y ENCEFALITIS EN HUMANOS

Grupo de virus	Transmisión	Distribución geográfica	Enfermedad en animales domésticos
Virus asociados con encefalitis			
Togaviridae, Alfavirus			
EEE	mosquitos	Este de Norteamérica, Caribe. Sudamérica	Equinos, faisanes
EEO	"	Oeste de Norteamérica, Sudamérica,	Equinos
EEV	"	Florida, E.U., Centroamérica y Sudamérica	Equinos
Flaviviridae, Flavivirus			
ESL	Mosquito	Norte, Centro y Sudamérica	Ninguno
EJ	"	Brasil	Ninguno
Rocío			
MVE			
TBE			
RSSF			
Louping ill			
Powassan	Garrapata	Norteamérica	Ninguno
Bunyaviridae			
Subgrupo California, Enc. de California, LaCrosse, Jamestown Canyon, Snowshoe hare	Mosquito	Norteamérica, China, Rusia	Ninguno

CUADRO 2b. VIRUS CON CICLO DE ARTRÓPODO QUE CAUSAN INFECCIÓN AGUDA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y ENCEFALITIS EN HUMANOS

Grupo de virus	Transmisión	Distribución geográfica	Enfermedad en animales domésticos
Virus principalmente asociados con otros síndromes, pero ocasionalmente causando encefalitis epidémica y endémica			
Togaviridae, Alfvirus			
Sindbis		En Africa y Europa	
Semliki Forest		En Africa y Sudeste de Asia	
Flaviviridae, Flavivirus			
Oeste del Nilo		En Africa y Medio Este	
Kyasanur FD			
Omsk fiebre hemorrágica		En Asia Central	
Bunyaviridae			
Flebovirus			
Fiebre del Valle del Rift		En Africa	
Crimea fiebre hemorrágica		En Europa del Este y Africa	
Reoviridae, Orbivirus			
Colorado Tick Fever	Garrapata	Oeste de Norteamérica	Ninguno

CUADRO 2c. VIRUS CON CICLO DE ARTRÓPODO QUE CAUSAN INFECCIÓN AGUDA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y ENCEFALITIS EN HUMANOS

Grupo de virus	Transmisión	Distribución geográfica	Enfermedad en animales domésticos
Infecciones rara esporádicas asociadas a encefalitis			
Flaviviridae, Flavivirus			
Ilheus	Mosquito	Sudamérica	Ninguno
Niegishi		En Japón y China	
Langat		En Asia	
Ortomyxoviridae			
Thogoto		En Africa	

CUADRO 3. VECTORES Y HUESPEDES VERTEBRADOS DE LOS ARBOVIRUS QUE CAUSAN ENCEFALITIS EN SERES HUMANOS

Lugar geográfico	Virus	Vector artrópodo y género principal	Huéspedes vertebrado amplificadores
Africa	Bunyanwera	Mosquito <i>Aedes</i>	Mamíferos silvestres
	Thogoto	Garrapata	Ganado
	Oeste del Nilo	Mosquito <i>Culex</i>	Aves, Equinos
Asia	Encefalitis Japonesa	Mosquito <i>Culex</i>	Porcinos *, Aves, Equinos
	Selva Kysanur	Garrapata <i>Haemophysalis</i>	Monos, Animales silvestres
Australia	Langat	Garrapata <i>Ixodes</i>	Roedores silvestres
	Del Valle Murray	Mosquito <i>Culex</i>	Aves
Norte y Sudamérica	EEE	Mosco <i>Aedes, Culiseta</i>	Aves, Equinos
	Ilheus	Mosco <i>Psorophora</i>	Aves, Mamíferos silvestres, Marsupiales
	Rocio	Probablemente mosquito	Desconocido
	ESL	Mosco <i>Culex</i>	Aves
	EEV	Mosco <i>Aedes, Culex, Mansonia, Psorophora</i>	Equinos, Humanos, Mamíferos silvestres
EEO	Mosco <i>Culex, Culiseta</i>	Aves, Equinos	

* Produce abortos

Nota: Los equinos no son amplificadores, sólo son huéspedes que enferman

CUADRO 4. CICLO NATURAL Y RUTAS QUE SIGUEN LOS ARBOVIRUS QUE CAUSAN ENCEFALITIS EN LOS SERES HUMANOS EN LOS TROPICOS

VERTEBRADOS	ARTROPODOS	VERTEBRADOS
Huésped Silencioso Amplificador	A	Huésped Silencioso Terminal
	B	C
Huésped Amplificador Enfermo	D	Huésped Enfermo Terminal
	E	
	Progenie Del Vector	

El ciclo A y algunas veces los ciclos B y E son endémicos-enzoóticos o de mantenimiento. Las rutas A,B y algunas veces las C y D son ciclos o rutas epidemio-epizooticos de movimiento del virus.

CUADRO 5. CICLOS NATURALES DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

ENDEMO-ENZOOTICO	EPIDEMO-EPIZOOTICO
<p>Mosquitos <i>Culex (Mel.) aikerii</i> <i>Culex (Mel.) portesi</i> <i>Culex (Mel.) taeniopus</i></p>	<p>Mosquitos <i>Aedes taeniorhynchus</i> <i>Aedes sollicitans</i> <i>Mansonia titillans</i> <i>Psorophora confinis</i> <i>Culex nigripalpus</i></p>
<p>Vertebrados Enfermedad en humanos Infección silenciosa Roedores silvestres, murciélagos, equinos, perros, armadillos, cerdos, bovinos.</p>	<p>Vertebrados Enfermedad en equinos y humanos Infección silenciosa Humanos, equinos, perros, cerdos, bovinos</p>

II. EVOLUCION MOLECULAR DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA ¹

Rebeca Rico Hesse

A. Introducción	27
B. Metodología	28
C. Resultados	29
D. Conclusión	33
Referencias	34

A. INTRODUCCIÓN

El virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) ha causado enfermedad en humanos y equinos en las Américas, variando desde brotes pequeños hasta epidemias/epizootias con un gran número de casos. Esta variabilidad en patogenicidad o epidemiología fue asociada con diferencias serológicas o antigénicas en los virus en 1969 (1). Hasta la fecha se han descrito 13 variantes o miembros del complejo seroepidemiológico de la Encefalitis Equina Venezolana (2). La mayoría de estas variantes son llamadas "enzoóticas" porque se transmiten en hábitat selvático, son avirulentos para equinos y rara vez causan enfermedad en humanos o animales domésticos. Estos virus se mantienen en ciclos de transmisión entre roedores (especialmente *Sigmodon hispidus*) y mosquitos del subgénero *Culex (Melanoconion)*. Solamente dos variantes serológicas, las IAB y IC, son llamadas "epizoóticas" porque causan enfermedad y alta mortalidad en equinos; estas variantes también han causado epidemias en humanos (3). Las variantes IAB y IC son transmitidas por un gran número de mosquitos y moscas hematófagas que se infectan por la ingestión de sangre de equinos con viremias muy altas; la mayoría de los animales (mamíferos y aves domésticos y silvestres) en las zonas epidémicas están infectados, aunque no se observen efectos clínicos. Las primeras epizootias se describieron en Venezuela, en los años treinta, pero estudios retrospectivos sugieren que la mayoría de las epidemias han ocurrido en el norte de América del Sur, incluyendo Colombia, Ecuador y Venezuela (2). En esta zona se encuentran también un gran número de focos de transmisión enzoótica.

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MEXICO, Chiapas, México, 1996.

Una de las preguntas más importantes con respecto a la epidemiología de este virus, concierne a la relación entre los virus enzoóticos y los epizoóticos, para determinar el origen de las epidemias y las mejores estrategias para el control de la enfermedad. Las diferencias serológicas y de transmisión de las variantes de este virus, dieron origen a la idea de que eran casi distintas especies de virus. Incluso, el virus "epizoótico" solamente se podía detectar durante las epidemias y parecían desaparecer después de agotar a los animales susceptibles de la zona; no se sabía cuáles eran los mecanismos de persistencia interepizoótica. Una de las hipótesis más prevalentes era que los virus epizoóticos emergían periódicamente de focos de virus enzoótico, por medio de mutación y selección, a nivel molecular y después, a nivel de poblaciones (2, 4, 5).

B. METODOLOGÍA

La gran variabilidad genética de los virus que contienen ARN ha permitido su análisis a nivel molecular, utilizando secuencias cortas de nucleótidos para clasificar las cepas o aislados clínicos. Cuando se comparan las secuencias de un gran número de aislados, se pueden generar árboles genealógicos que representan las relaciones evolutivas de los virus asociados con brotes o epidemias de la enfermedad. Estos estudios han resultado en un mejor entendimiento del origen, transmisión y epidemiología de los agentes patógenos.

Los análisis de filogenia o evolución molecular, consisten en determinar la secuencia de nucleótidos de dos regiones distintas del genoma del virus de la EEV y compararlas entre aislados; estas zonas codifican partes de las proteínas estructurales de la partícula viral o enzimas específicas, usadas durante la replicación del virus en la célula huésped. Se escogen las secuencias a comparar basándose en teorías de evolución molecular, que definen cuáles zonas genómicas representan el "reloj molecular" del virus. Por lo tanto, la comparación y cuantificación de diferencias de nucleótidos entre áreas cortas del genoma aproxima la evolución total del virus. Se evita usar secuencias de proteínas modificadas por presiones inmunológicas; por ejemplo, se usan zonas que codifican proteínas no estructurales o áreas de la proteína estructural que están internalizadas en la partícula. Esto permite ver la evolución del virus a largo plazo y sin modificación por el huésped individual (sin selección natural por anticuerpos, por ejemplo). Las secuencias comparadas por lo tanto sirven de marcador genético o para clasificar los virus en genotipos. Como no se incluyen secuencias que codifican zonas antigénicas expuestas en la superficie del virus, las clasificaciones en genotipos no siempre se correlacionan con las relaciones serológicas.

Las técnicas utilizadas para generar filogenias son muy especializadas. Se necesita un laboratorio de alta seguridad, para aislar, crecer y concentrar el virus en altas cantidades, sin riesgo al personal de infección por aerosol. El equipo usado para determinar la secuencia de nucleótidos del ARN extraído del virus consiste en cámaras de electroforesis, fuentes eléctricas de alto voltaje, bombas de vacío, etc. y también requiere el uso de radioisótopos, enzimas y reactivos sensibles al calor y a contaminantes en el ambiente. Los datos generados se tabulan, editan y almacenan en computadoras que corren programas muy costosos. La comparación de estas secuencias de nucleótidos entre muchos virus se hace por medio de algoritmos complejos, en microcomputadoras de alta capacidad (en PowerMac o PC con memoria especial), o en macrocomputadoras y sistemas institucionales (VAX o SUN). Por lo tanto, los análisis evolutivos actualmente se hacen en pocos laboratorios, a nivel internacional. Esto implica que cuando hay epidemias repentinas o esporádicas, se requiere que el personal de campo consiga la manera de transportar un gran número de muestras a los centros de referencia nacionales o internacionales (con permisos de transporte apropiados). La muestra preferida para aislamiento de virus es el suero (mantenido en congelación), aunque también se puede aislar virus de cerebro o hisopos faríngeos y otros; el suero tiene la ventaja de que también se puede utilizar para detectar anticuerpos contra el virus, aunque estas pruebas no dan información específica en cuanto a la clasificación del virus dentro de la especie (subtipo o variedad). Actualmente se requieren tanto análisis antigénico (por ELISA, IH o IFA) como filogénico, de por lo menos una docena de muestras, de distintas zonas afectadas, para la clasificación de agentes etiológicos de encefalitis equina y confirmación de causa de epidemias.

C. RESULTADOS

La relación entre los virus enzoóticos y epizoóticos de la EEV se estudió retrospectivamente durante la década de los 80, cuando hubo poca actividad epidemiológica del virus. Los primeros estudios genéticos del virus de la EEV en Colombia (5) demostraron que había muy poca diferencia entre estos dos tipos de virus, si se estudiaban aislados de la misma región geográfica. Estos virus, aunque pertenecían a distintas variantes serológicas (ID y IC), mostraban diferencias genéticas de aproximadamente 1% o menos, cuando se comparaba el total de su ARN (con un total aproximado de 11,400 nucleótidos de longitud). Esto significa que por mutación (de 114 nucleótidos o menos) y selección, se pueden generar variantes epidémicas o virulentas del virus de la EEV; este fenómeno puede ocurrir rápidamente en virus de ARN, por su alta tasa de error durante la replicación en la célula huésped. Como había diferencias serológicas o antigénicas detectadas entre estos virus, en pruebas con anticuerpos

policlonales y monoclonales, algunas de las mutaciones probablemente ocurrían en las proteínas estructurales expuestas en la superficie viral. La posibilidad de que el virus enzoótico fuera el origen de las epidemias en Colombia fue una de las conclusiones de este trabajo. No fue sino hasta la década de los 90, con el desarrollo de las técnicas de secuenciación, que esta relación fue probada.

La relación genética de todos los virus prototipo del complejo serológico de EEV fue definida usando técnicas de análisis de secuencias en 1992 (6). Se compararon 20 virus distintos de EEV, usando un total de 470 nucleótidos de los genes nsP4 y E1 para cada virus. Se incluyeron también otros virus representantes de la familia de los alfavirus, para mostrar su divergencia del complejo serológico de EEV. Los resultados de este análisis se muestran en la Figura 1. Los subtipos IV, V y VI, que circulan en Brasil, Guyana Francesa y Argentina son los más divergentes o distintos del resto del grupo. Después siguen los representantes del subtipo I, variedades IE (Panamá 1962) y IF (Brasil 1978). El subtipo III, compuesto por virus aislados en Perú, Guyana Francesa, Brasil y Estados Unidos, forma un grupo con evolución independiente (con alta divergencia dentro del propio grupo) que refleja su divergencia ecológica en cuanto a ciclos de transmisión (en pájaros y/o monos). Las relaciones genéticas más estrechas ocurren entre los virus de los subtipos II y I, variedades AB, C y D; esto implica que tienen un progenitor común y que probablemente el virus del subtipo II se introdujo a los Estados Unidos (Florida) desde América del Sur, la zona más activa de transmisión de EEV. En las ramas que incluyen los virus de las variedades serológicas IAB, IC y ID, podemos ver que los virus epizooticos/epidémicos (Venezuela 1938, Trinidad 1943, Venezuela 1963, Colombia 1967, Guatemala 1969 y Perú 1973) tienen muy pocas diferencias genéticas (2-13 nucleótidos/470) de los virus enzoóticos (Colombia 1960, Panamá 1961, Colombia 1983). Los virus enzoóticos (ID) siempre se encuentran más cerca del nodo o progenitor de la rama y son los únicos virus de EEV que mantienen ciclos de transmisión continua en estas zonas. Por lo tanto, el origen de las epizootias en la parte norte de América del Sur parece residir en la población de virus que se transmite en focos enzoóticos.

Los estudios prospectivos de brotes de EEV que ocurrieron en 1993 en Venezuela (7) y en México, aclararon más la relación entre los virus enzoóticos y su potencial para causar epidemias. En diciembre de 1992, en el estado de Trujillo (a orillas del Lago Maracaibo) en Venezuela, se reportaron los primeros casos de EEV en equinos en casi 20 años. La última descripción de una epizootia/epidemia de EEV en las Américas había sido en la Península Guajira en Venezuela en 1973. El brote, que ocurrió hasta fines de enero de 1993, causó 10 muertes documentadas en equinos y solamente enfermedad febril en humanos (15% de personas muestreadas con anticuerpos, dos con aislado viral). Una campaña de

vacunación de equinos (con cepa TC-83) iniciada en febrero pareció controlar la enfermedad. En junio de 1993 se reportaron casos adicionales de EEV en equinos y humanos del estado de Zulia (al lado opuesto del Lago Maracaibo que Trujillo). El número de casos en equinos se desconoce pues no había vigilancia activa, aunque hubo reportes de un gran número de muertes en burros salvajes. En humanos solamente hubo enfermedad febril, pero se obtuvieron aislados virales de suero. Se inició otra campaña de vacunación de equinos en los alrededores de la zona afectada; no hubieron más casos en esta área del país sino hasta dos años después. El análisis antigénico (con anticuerpos policlonales y monoclonales) de más de cinco muestras de estos brotes demostró que se trataba de virus del serotipo IC, causante de muchas otras epizootias en esta zona de América del Sur. Lo singular de esta epidemia se demostró con el análisis genealógico de aislados virales de equinos (cepas 125573, 243937, 243938) y humanos (SH3, SH5), cuando se compararon con otros virus aislados anteriormente. La Figura 2 muestra la relación estrecha (divergencia de 5/470 nucleótidos) entre los virus de estos brotes con un virus tipo ID aislado en Colombia en 1983, de un ciclo enzoótico (8).

Estos resultados confirmaron que el virus enzoótico es el origen evolutivo del virus epizoótico en Colombia y Venezuela, y que la generación de virus epidémico probablemente continuará hasta que se eliminen los focos enzoóticos de EEV en las Américas. El potencial de producción de virus virulento parece ser característica de otros ciclos de virus enzoótico, como el subtipo IE en México.

Entre mayo y julio de 1993 ocurrió una epizootia en la zona costera de Chiapas, México, principalmente en los municipios de Mapastepec, Pijijiapan y Escuintla. Este brote consternó a las autoridades veterinarias y de salud pública a nivel internacional por su posible relación con la epizootia simultánea en Venezuela. Solamente se obtuvo un aislado viral de un caballo muerto en el municipio de Mapastepec, que resultó ser del tipo serológico IE, clasificado como "enzoótico" (1). Cuando este virus se comparó genéticamente a otros aislados hechos anteriormente en México, Guatemala y Panamá, también del subtipo IE (ver Figura 3), se confirmó que la epidemia había sido causada por un virus distinto al de Venezuela, y que no había sido transportado de esa zona a México. Lo intrigante fue que el virus tipo IE siempre fue considerado como avirulento para equinos y nunca se había asociado con enfermedad o muerte más que en humanos (ver cepa de Panamá, 1962); tampoco se había descrito su transmisión por una gran variedad de mosquitos, como los virus "epizoóticos". Estos estudios preliminares, usando solamente un aislado viral de Chiapas, deben confirmarse con análisis serológico y filogénico de más muestras. También se deben hacer estudios de patogenicidad en equinos, para demostrar que este virus tiene capacidad de

causar las altas tasas de mortalidad descritas durante la epizootia y demostrar que es el agente etiológico, de acuerdo a los postulados de Koch.

La última epidemia/epizootia que ha contribuido a un mejor entendimiento de la evolución molecular de virus de la EEV, fue la ocurrida en Venezuela y Colombia de abril a octubre de 1995 (9,10, 11). Esta epidemia fue la más grande reportada desde 1973, y afectó a un total de cerca de 100,000 humanos y un número desconocido de equinos. La última vez que se había descrito una epidemia de esta magnitud en esta zona (Península Guajira) fue en 1967, cuando hubo aproximadamente 220,000 casos humanos (12).

Los primeros casos ocurrieron en los estados de Falcón, Carabobo, Yaracuy, Lara y Zulia en Venezuela, de abril a julio de 1995. Para fines de agosto, la epidemia se había extendido al noroeste del estado de Zulia, a la Península Guajira compartida por Colombia y Venezuela. La mayoría de los casos ocurrieron en los pobladores de esta zona, los indígenas Wayuu. El primer aislado viral que se estudió molecularmente fue de un caso humano del estado Falcón (cepa 6119), que resultó ser del tipo IC (epizoótico) por serología. Este virus y todos los colectados de otros humanos, equinos y mosquitos durante la epidemia, fueron clasificados dentro de un grupo filogénico (ver Figura 4) comprendido por aislados anteriores de la Península Guajira (cepas V198, V202, PHO127, PMCH05) y de la zona central de Venezuela (cepas P676, prototipo del IC, y Panaquire). En este caso no tenemos un virus de tipo ID que sirva para aproximar al progenitor teórico de este virus epidémico y el más cercano evolutivamente es un virus aislado en Colombia en 1960 (cepa V209A). Lo interesante es que todos los virus IC del grupo filogénico muestran muy pocas diferencias genómicas (0-4 nuc/851), menos de lo que se esperaría durante 33 años de evolución (1962 a 1995), aunque esta característica de estabilidad genética se había descrito ya para este y otros virus de la familia (13).

Esta epidemia se caracterizó por un alto número de casos en humanos, sin la correlación común con un alto número de casos en equinos. Algunos de los virus mostrados en el árbol genealógico se obtuvieron directamente de hisopos faríngeos (cepa 951254) o del cerebro de un feto humano abortado espontáneamente (cepa 12563, uno de nueve casos documentados en Venezuela), demostrando una alta patogenicidad para humanos. Se especula que la falta de casos equinos durante esta epidemia haya sido por el reducido número de equinos que se encontraban en esta zona, normalmente árida.

D. CONCLUSIÓN

La determinación de secuencias de nucleótidos de un gran número de virus de EEV ha permitido su comparación y la generación de árboles genealógicos, que a su vez proporcionan un estimado cuantitativo de relaciones genéticas o evolutivas. Esta información nos ha ayudado a definir el origen evolutivo y geográfico de los virus epidémicos/epizoóticos y así contribuir a un mejor entendimiento de la epidemiología de la Encefalitis Equina Venezolana. El mecanismo de generación o evolución de cepas epizoóticas parece ser por mutación y selección de variantes de un progenitor enzoótico; los resultados discutidos aquí apoyan esta hipótesis. La definición de ciertos ciclos enzoóticos como progenitores de virus epizoóticos implica que la metodología de control de la enfermedad debe estar concentrada en la eliminación de focos selváticos. Esto significa que se debe interrumpir la circulación de virus que son normalmente avirulentos para équidos y que infectan sólo ciertos roedores o pájaros, en zonas remotas. Actualmente no existen vacunas contra los virus enzoóticos y se ha demostrado que la protección contra estas cepas se pierde meses después de la inmunización de equinos y humanos con la vacuna TC-83, elaborada con un virus epizoótico aislado en Trinidad en 1943 (4,14). En cambio, la inmunización o infección natural de equinos con cepas enzoóticas, protege contra virus epizoótico en estudios de desafío experimental (14). Por lo tanto es de interés formular vacunas nuevas, hechas con virus enzoótico aislado recientemente, que puedan interrumpir la transmisión selvática de la EEV en humanos, equinos, y quizá en otros animales o vectores que contribuyan a la amplificación de las variantes o mutantes virulentas, antes de que ocurra la epizootia.

Históricamente se han preparado vacunas que se administran y protegen a équidos solamente y los sistemas de control suponen que la interrupción de enfermedad equina protegerá a la población humana. La última epidemia ocurrida en la Península Guajira es ejemplo de la posible ineficiencia de esta estrategia; parece haber ocasiones en que el virus de la EEV se puede transmitir de persona a persona, a través de mosquitos o por aerosol. Estas observaciones apoyan la necesidad de estudios de patogenicidad humana, con modelos animales, con los aislados recientes de Venezuela y Colombia, pero también que se considere la formulación de vacunas humanas, para el control de esta enfermedad tan importante para la salud pública.

REFERENCIAS

1. Young N.A., Johnson K.M.: Antigenic variants of Venezuelan equine encephalitis virus: Their geographic distribution and epidemiologic significance. *Am. J. Epidemiol.*, 89:286-307, 1969.
2. Walton T.E., Grayson M.A.: Venezuelan equine encephalomyelitis. En, "The Arboviruses: Epidemiology and Ecology" (T.P. Monath, Ed.), Vol. 1, pp. 59-85. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A. 1990.
3. Sellers R.F., Bergold G.H., Suarez O.M., Morales A.: Investigations during Venezuelan equine encephalitis outbreaks in Venezuela, 1962-1964. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14:460-469, 1965.
4. Johnson K.M., Martin D.M.: Venezuelan equine encephalitis. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 18:79-116, 1974.
5. Rico-Hesse R., Roehrig J.T., Trent D.W., Dickerman R.W.: Genetic variation of Venezuelan equine encephalitis virus strains of the ID variety in Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 38:195-204, 1988.
6. Weaver S.C., Bellew L.A., Rico-Hesse R.: Phylogenetic analysis of alphaviruses in the Venezuelan equine encephalitis complex and identification of the source of epizootic viruses. *Virology*, 191:282-290, 1992.
7. Rico-Hesse R., Weaver S.C., de Siger J., Medina G., Salas R.A.: Emergence of a new epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis virus in South America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:5278-5281, 1995.
8. Dickerman R.W., Cupp E.W., Groot H., Morales Alarcon A., Cura E., Dickerman A.W., Ibagos A.L., Rico-Hesse R., Taylor C.A., Weaver S.C.: Venezuelan equine encephalitis virus activity in northern Colombia during April and May 1983. *Bull. Pan. Am. Health Org.*, 20:276-283, 1986.
9. Daza E., Frías V., Alcalá A., López I., Bruzon I., Montero J.T., Alvarez G., García M.A., Rodríguez R., Boshell J., de la Hoz F., Rivas F., Olano V., Díaz L.A., Cáceres F.M., Aristizabal G., Cárdenas V., Cuéllar J., González E., Ruíz A., Pinheiro F., Gusmao R., Weaver S., Tesh R., Rico-Hesse R.: Venezuelan equine encephalitis-Colombia, 1995. *MMWR*, 44:721-724, 1995.

10. Daza E, López I, Alcalá A, Patiño A, Frías V, Alvarez G, García MA, Riaño V, Rodríguez R, Boshell J, Olano VA, Martínez E, Villarreal LI, Díaz LA, Rivas F, Cárdenas V, Smith JF, Ludwig GV, Roberts B, Rico-Hesse R, Weaver S. Update: Venezuelan equine encephalitis-Colombia, 1995. *MMWR* 44:775-777, 1995.
11. Weaver S.C., Salas R., Rico-Hesse R., Ludwig G.V., Oberste M.S., Smith J.F., Barreto A., Boshell J., Fernández Z., Godoy O., Camacho T., Tesh R.B.: Re-emergence of epidemic Venezuelan equine encephalomyelitis in South America. *Lancet*, 1996
12. Sanmartín C., Mackenzie R.B., Trapido H., Barreto P., Mullenax C.H., Gutiérrez E., Lessnes C.: Encefalitis equina venezolana en Colombia, 1967. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 74:108-137, 1973.
13. Weaver S.C., Rico-Hesse R., Scott T.W.: Genetic diversity and slow rates of evolution in New World alphaviruses. En, J.J. Holland (Ed.) *Current Topics Microbiol. Immunol.*, 176:99-117, 1992.
14. Walton T.E., Alvarez O. Jr., Buckwalter R.M., Johnson K.M.: Experimental infection of horses with enzootic and epizootic strains of Venezuelan equine encephalitis virus. *J. Infect. Dis.*, 128:271-282, 1973.

Figura 1. Árbol genealógico de los virus del complejo serológico de la EEV. La escala representa diferencias de nucleótidos entre los virus, conectados por nodos ancestrales. Se incluye el virus Sindbis (SIN) prototipo de la familia alfavirus, y tres representantes de encefalitis equina del este (EEE), Florida 1982, Brasil 1956, y Argentina 1936, en la parte superior. El nodo marcado con A representa el virus ancestral o progenitor de los complejos serológicos de EEE y EEV.

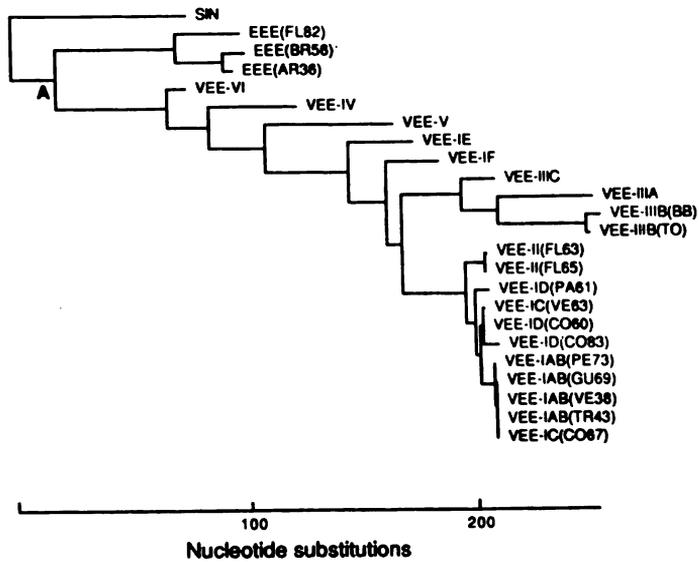


Figura 2. Árbol genealógico del virus de la EEV, incluyendo cinco muestras de la epidemia/epizootia en Venezuela en 1992-1993. Para simplificar la gráfica, se incluyen solamente virus de los subtipos IABCD y II (un representante de Florida, 1963). El progenitor teórico del grupo venezolano (1992-1993) es un virus muy similar al de Colombia de 1983.

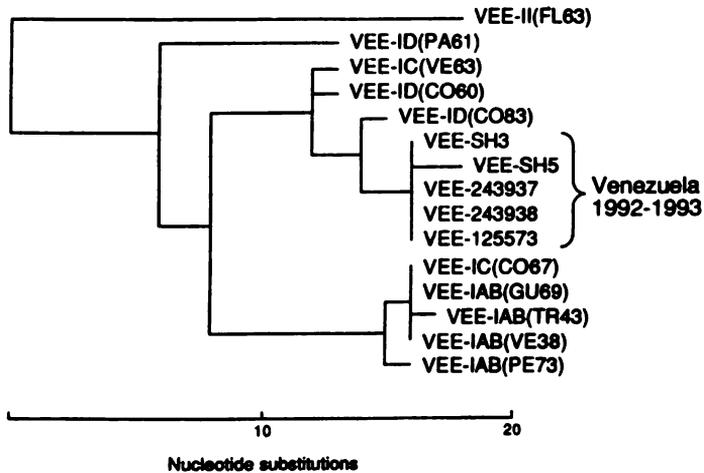


Figura 3. Árbol genealógico del virus de la EEV, con representantes de los subtipos I, II y III, incluyendo un aislado de Chiapas, 1993. El grupo monofilético del subtipo IE contiene aislados de Panamá, 1962 (Almirante, Bocas del Toro), México, 1966 (Sontecomapan, Veracruz), México, 1993 (Mapastepec, Chiapas), Guatemala, 1968 (La Avellana, Santa Rosa), y Guatemala, 1980 (Puerto Barrios, Izabal). Ver figuras anteriores para la escala aproximada.

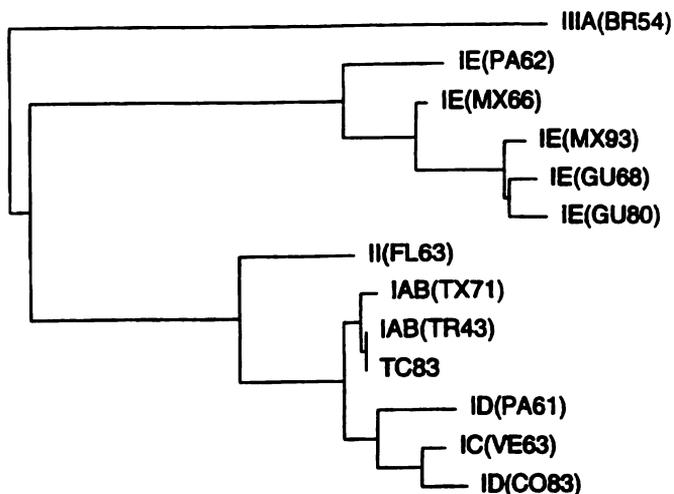
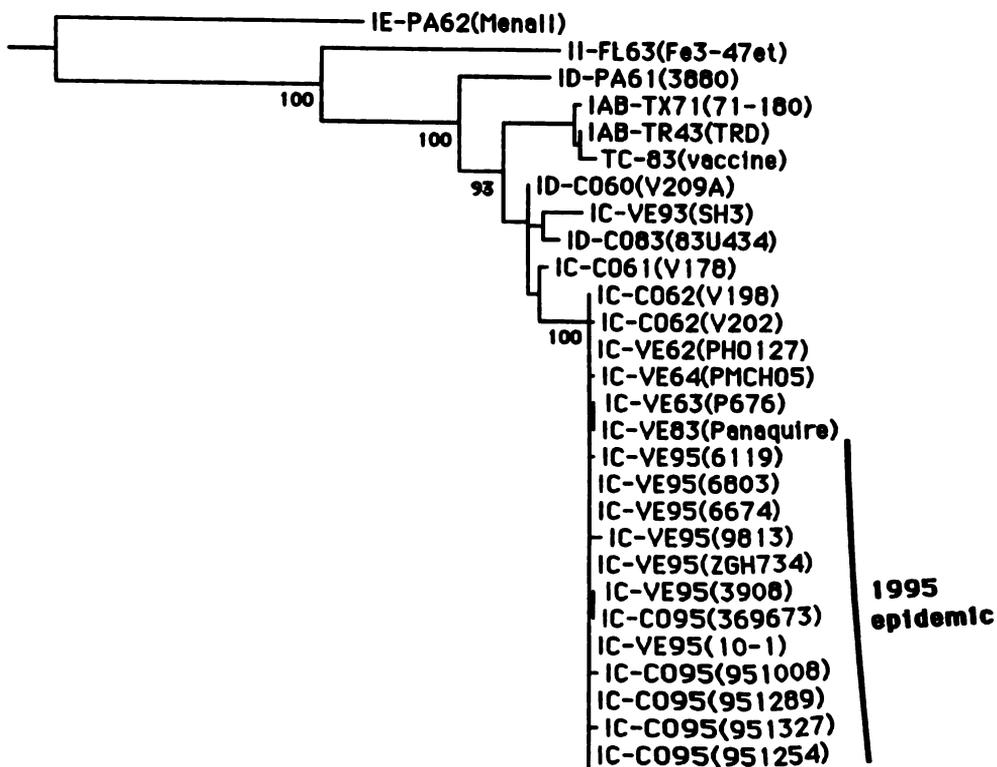


Figura 4. Árbol genealógico del virus de la EEV, de subtipos I y II, incluyendo 13 aislados durante la epidemia de 1995 en Venezuela y Colombia. Los números debajo de cuatro de las ramas (93 y 100) representan el significado estadístico del árbol (máximo de 100).



III. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA ^{1,2}.

George V. Ludwig

A. Introducción	41
B. Serología: Neutralización, fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación, ELISA-IgG, ELISA IgM	43
C. Detección del virus Aislamiento, ELISA de captura del antígeno, PCR	55

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MÉXICO, Chiapas, México, 1996.

² Nota de los editores. Este trabajo fue presentado como figuras y cuadros

A. INTRODUCCIÓN

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

- 1. Inmunológico**
 - a. Detección de antígeno**
 - b. Detección de anticuerpos**
 - 2. Molecular**
 - a. Detección de ácidos nucleícos**
-

- La tecnología se ha movido a un paso rápido y el diagnóstico no ha sido la excepción
- Los métodos de diagnóstico pueden ser divididos en dos formas básicas, los basados en técnicas inmunológicas y en técnicas moleculares.
- Los avances modernos en ingeniería biomédica han proporcionado una amplia variedad de nuevas tecnologías para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas.
- Todos utilizan formatos semejantes: membranas, microplacas, perlas magnéticas, fibra óptica y microchips.
- Algunos ejemplos incluyen: dipsticks, flowthru, ELISA, wicks, ECL, biosensores y fotolitografía.
- El USAMRIID ha desarrollado pruebas utilizando dipsticks, wicks, ELISA, PCR, ECL y en un futuro cercano se desarrollarán ensayos basados en fibras ópticas y microchips.

DIAGNÓSTICO DE EEV: CONCEPTOS GENERALES

AISLAMIENTO

- Identificación
 - Serológica
 - Bioquímica
 - Genética
- Requerido para la subtipificación

SEROLOGÍA

- Interpretación con cautela en ausencia de aislados
- Útil para establecer la exposición

- Esta tecnología es difícil de implementar en la mayoría de los países pues el equipo tiene un costo elevado, requiere de personal entrenado y no necesariamente se necesita.

- La manera clásica basada en la serología y el aislamiento ha sido y será la base del diagnóstico de la EEV.

- Ambos métodos alcanzan la misma meta que es la identificación del agente infeccioso.

- Se prefiere el aislamiento para la identificación definitiva del virus.

- Sólo la serología debe ser siempre interpretada con cautela y generalmente requiere de buenas historias clínicas y/o muestras pareadas.

- Algunas de las técnicas que actualmente se hacen ayudan al diagnóstico serológico.

B. SEROLOGÍA

DIAGNÓSTICO DE LA EEV: SEROLOGÍA

ENFOQUES CLÁSICOS*

- Neutralización
- Fijación del complemento
- Inhibición de la hemaglutinación
- Inmunofluorescencia

NUEVAS TECNOLOGÍAS

- ELISA
 - Clásica
 - Dip Stick
-

* En la ausencia de aislamiento todos requieren de muestras de suero en la fase aguda y en la convaleciente

- La mayoría de nosotros nos seguimos apoyando en los enfoques clásicos del diagnóstico serológico de la EEV que incluye:

- Nuevas técnicas, principalmente ELISA la cual ha venido a reemplazar las clásicas técnicas de identificación preliminar.

- La utilización de los enfoques clásicos probablemente nunca sean totalmente reemplazados. Presentaré resultados recientes de nuestro laboratorio.

- Además haré énfasis en la necesidad de la interpretación cuidadosa de sólo los resultados serológicos.

**DIAGNÓSTICO DE LA EEV:
VENTAJAS Y DEVENTAJAS DE LAS TÉCNICAS CLÁSICAS**

VENTAJAS:

BIEN CARACTERIZADAS

- Sólo técnicas aprobadas se utilizan en ciertas áreas
- Sirven como estándar para otras pruebas

EXISTE UNA BASE DE DATOS

SON RELATIVAMENTE SENCILLAS

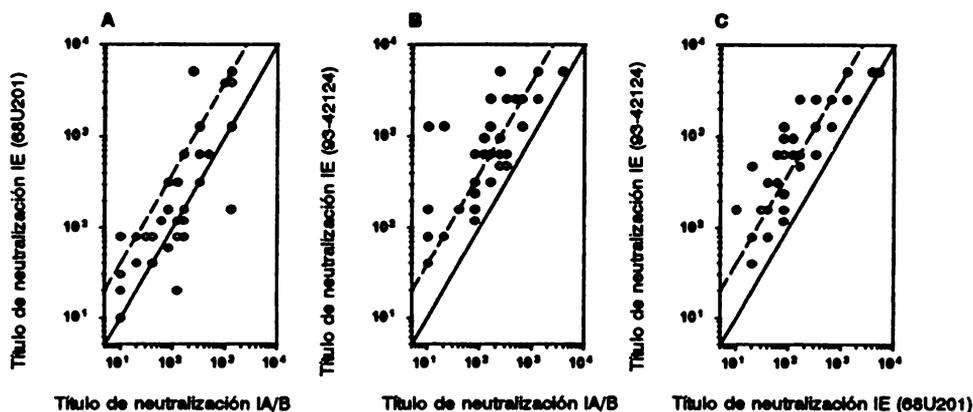
- No se necesita equipo especializado por ejemplo como con la inmunofluorescencia

SE CONSIGUEN REACTIVOS DE REFERENCIA

DESVENTAJAS:

- LLEVARLAS A CABO TOMA TIEMPO
 - REQUIEREN UN INTENSO TRABAJO
 - TIENEN BAJA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD
 - PROPORCIONAN MENOR CANTIDAD DE INFORMACIÓN
-

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE NEUTRALIZACIÓN DE SUEROS DE CABALLOS QUE SE TOMARON EN CHIAPAS, TABASCO Y YUCATÁN EN 1995



Habiendo dicho que estas técnicas tienen problemas me gustaría discutir la reciente utilización de muestras de caballos de los brotes recientes de EEV en México.

- 38 de 40 animales poseían anticuerpos neutralizantes al virus de la EEV.
- 9 de los 38 animales positivos a la EEV tuvieron un título mayor de cuatro veces o más contra el virus IE (68U201). Muchos respondieron mejor a TrD.
- 25 de los 38 animales positivos para EEV tuvieron un título mayor de cuatro veces o más contra el aislado Chiapas IE 1993 (cepa 93-42124). Ninguno respondió mejor al TrD.
- 23 de los 38 caballos positivos a EEV tuvieron un título mayor de cuatro veces o más contra 93-42124 en comparación con 68U201, mientras que ninguno de los caballos respondieron mejor contra 68U201 que a 93-42124 (Fig. 1C).
- Estos resultados sugieren que el virus circulante es IE y que es antigénicamente diferente del IE clásico.
- Desafortunadamente no se muestrearon suficiente caballos para obtener una imagen clara de la epidemiología clásica de estos virus.

**DIAGNOSTICO DE EEV:
NUEVAS TECNOLOGÍAS DE USO CORRIENTE**

ELISA

- IgG (Equinos, Humanos) *
- IgM de captura (Equinos, Humanos)

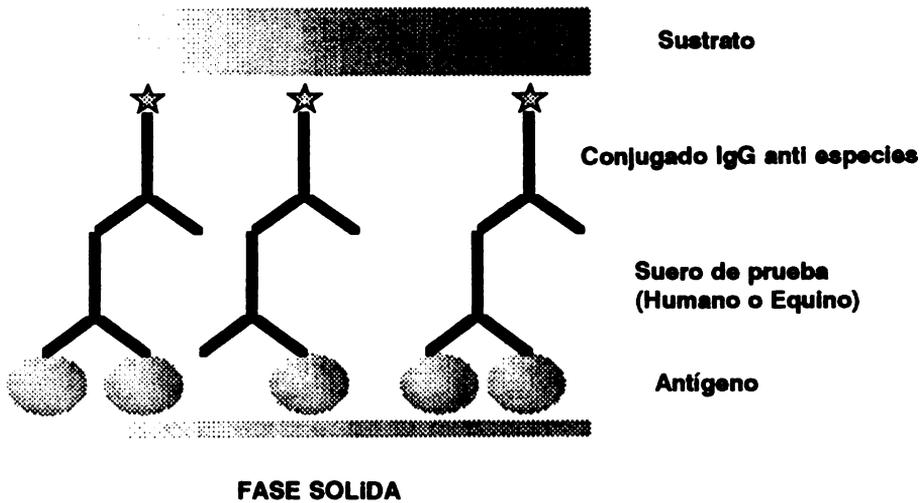
* Requiere de muestras de suero en la fase aguda y convaleciente en ausencia de aislamiento.

- Durante el brote de Colombia y Venezuela en 1995 utilizamos exitosamente la nueva técnica de ELISA para seguir el movimiento de EEV en Colombia.

- Debido a problemas de logística fue difícil o casi imposible obtener muestras pareadas de humanos o equinos. Debido a que no se puede diferenciar una infección reciente de una anterior, o en el caso del caballo, diferenciar una infección natural de la vacunación, la herramienta más útil fue la ELISA IgM de captura.

- Se analizarán brevemente ambas técnicas:

ENSAYO DE IgG (Directo)



-
- Esta es la manera como el ensayo IgG se efectúa
 - La calidad del antígeno es muy importante para evitar reacciones cruzadas.
 - Típicamente utilizamos virus purificado en gradientes de sacarosa.
 - Como agente bloqueador utilizamos gelatina de pescado que tiene la menor reactividad cruzada.
 - Puede no ser útil para estudios ecológicos pues necesita conjugados específicos para cada especie.

ENSAYO DE IgM DE CAPTURA

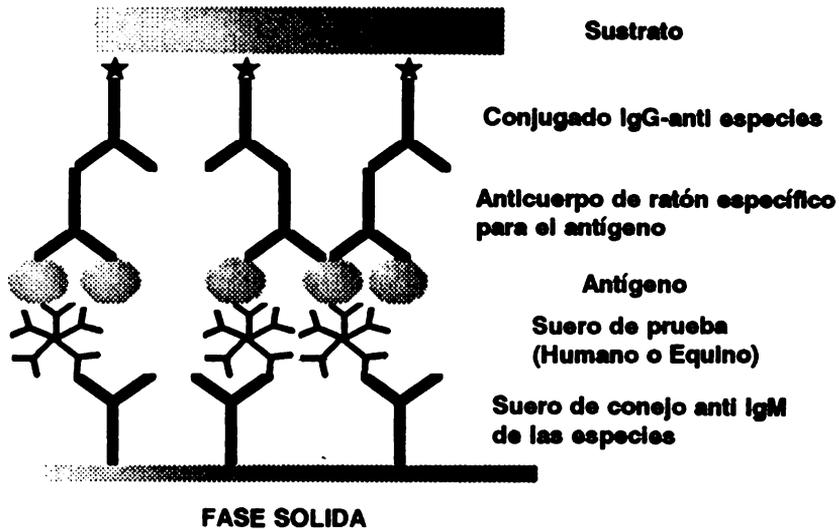
VENTAJAS

- Rápida
- Bajo costo
- Sensible
- Evita la necesidad de sueros pareados
- Reacciona con todos los Subtipos I de EEV

DESVENTAJAS

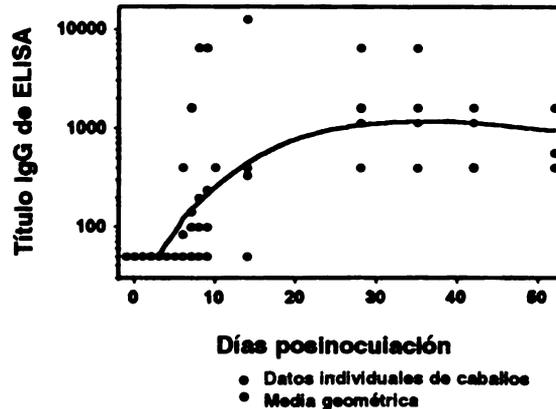
- Reacciona con todos los Subtipos I de EEV
-

ENSAYO DE IgM DE CAPTURA



-
- La prueba IgM es un poco diferente que la IgG
 - A semejanza de la prueba IgG, la prueba de IgM de captura tiene la limitación que necesita anticuerpos de captura específicos para la especie.
 - La calidad del antígeno es mucho menos importante para este prueba. Típicamente utiliza el sobrenadantes de los cultivos de tejidos.
 - El ensayo es muy específico.

RESPUESTA DE IgG DE CABALLOS INOCULADOS CON EEV (TRINIDAD DE BURRO)



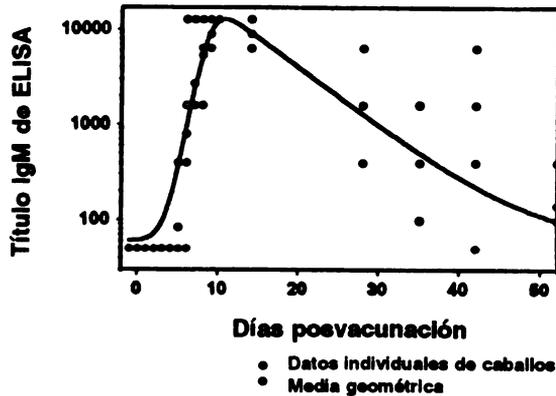
- Como parte de nuestro esfuerzo en el desarrollo de vacunas completamos algunos estudios en Plum Island, Nueva York, en donde probamos en caballos algunos de los candidatos de vacunas. Este experimento dio la oportunidad de seguir el desarrollo de los anticuerpos contra la EEV en caballos y de esta manera mejorar la interpretación del diagnóstico serológico de los datos de ELISA. Los datos que se presentan fueron los obtenidos de los animales testigos inoculados con el virus TrD.

- Utilizando la prueba IgG directa se encontró que el primer caballo produjo anticuerpos IgG detectables desde el día 6 después de la inoculación.

- El máximo título IgG fue entre los días 30 y 40 y permaneció elevado durante el resto del estudio.

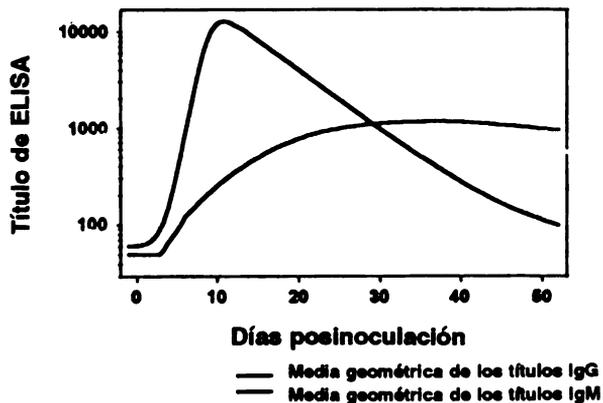
- Basados en trabajos y experiencia previa, es probable que los caballos que sobrevivan a la infección sean inmunes durante toda su vida, aunque se esperaba que los títulos IgG se redujeran lentamente con el tiempo.

RESPUESTA DE IgM DE CABALLOS INOCULADOS CON EEV (TRINIDAD DE BURRO)



-
- Los datos de IgM son bastante diferentes a los de IgG.
 - El caballo desarrolló IgM un día antes que IgG, en el día 5.
 - La máxima concentración se alcanzó alrededor del día 10
 - Los títulos se redujeron rápidamente
 - Basados en estos datos estimamos que la IgM se reducirá a niveles no detectables alrededor de los 60 días posinfección.

RESPUESTA DE ANTICUERPOS DE CABALLOS DESPUÉS DE LA INOCULACION CON EEV (TRINIDAD DE BURRO)



-
- Cuando los dos resultados son sobrepuestos uno sobre el otro se observa una respuesta inmune clásica a una enfermedad infecciosa. La producción rápida de IgM seguida por IgG, con los títulos IgG que se mantienen con el tiempo mientras que los IgM se reducen.
 - Basados en estos datos se puede tener confianza que una respuesta de IgM en un caballo representa una infección que ocurrió en menos de 60 días.
 - Por lo que conozco, todavía no existen datos semejantes en suero humano.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EEV Y EEE EN SUEROS DE EQUINOS

ESTADO	EEV IgM	EEE IgM
La Guajira	28/57*	0/0
César	7/27	1/3
Córdoba	6/45	3/26
Arauca	0/13	0/13
Magdalena	1/2	1/2
Bolívar	1/5	1/5
Sucre	1/22	3/22
Venezuela	0/1	1/1

* Número de positivos/Número de probados

Se utilizó el ensayo de IgM de captura con gran éxito durante los últimos brotes de EEV en Colombia. En esta tabla se resumen los resultados de las muestras probadas durante un período de dos semanas en septiembre de 1995. Se utilizó la prueba con EEE y EEV juntas en muchos casos. Este uso diferencial de la prueba múltiple resultó muy útil para dirigir los esfuerzo hacia la vacunación en sitios activos de EEV y lejos de los sitios endémicos de EEE.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EEV, EEE Y DEN EN SUEROS DE HUMANOS

ESTADO	EEV IgM	EEE IgM	Dengue IgM
La Guajira	39/110*	0/18	2/20
Atlántico	2/20	0/3	0/0
Magdalena	0/4	0/0	0/0
Córdoba	0/2	0/2	0/0
Tolima	0/2	0/0	0/0
Cúcuta	0/7	0/0	0/0

* Número de positivos/Número de probados

A semejanza de los caballos, la prueba de IgM de captura en humanos fue muy útil para identificar los casos activos. Muchas de esas muestras provinieron de pacientes admitidos en los hospitales. Mientras que la IgM de captura sola no es suficiente para efectuar un diagnóstico definitivo, es sugerente. Debido a que el aislamiento y los sueros pareados son difíciles de conseguir de pacientes en áreas remotas, esta puede ser la única herramienta disponible para el diagnóstico de la EEV en humanos. Se utilizó este ensayo para completar los estudios de seroprevalencia en la Guajira después del brote. Como era de esperarse, la prevalencia de IgM en la comunidad fue muy baja después del brote.

C. DETECCION DEL VIRUS

AISLADOS OBTENIDOS EN COLOMBIA EN 1995

- Humano	8
- Equino	2
- Mosquito	1

- Se obtuvieron 11 aislados de muestras de virus tomadas durante nuestro viaje a Colombia en 1995. Otra vez me gustaría reiterar la importancia de estos aislados. Sin ellos no habría confirmación de los resultados de la serología y no habría información de las cepas que estaban circulando.

- Se identificó el virus como IC por análisis de secuencias y se confirmó por métodos inmunológicos, de los cuales se hablará más adelante.

DIAGNÓSTICO DE EEV VIROLOGÍA

ENFOQUES CLÁSICOS

Aislamiento

- Cultivos celulares
- Ratón lactante

Identificación de aislados

- Neutralización
- Fijación del complemento
- Inhibición de la hemaglutinación
- Inmunofluorescencia

-
- Los métodos serológicos son importantes y útiles, pero en términos de importancia global, no existe un sustituto para obtener un aislamiento del virus.
 - Particularmente importante para EEV, debido a que se debe hacer rápidamente la diferenciación entre la forma epidémica y endémica.
 - Actualmente no existe un sustituto confiable para las técnicas clásicas de aislamiento, aunque esperamos contar con alternativas en el futuro inmediato ya que el aislamiento tiene sus riesgos inherentes. Medidas de bioseguridad.
 - La identificación de los aislados todavía se hace utilizando varias técnicas. Actualmente se ha empezado a hacer un progreso real con nuevas técnicas que se han estado utilizando regularmente en algunos laboratorios.

DIAGNÓSTICO DE EEV VIROLOGÍA

NUEVOS ENFOQUES

Aislamiento

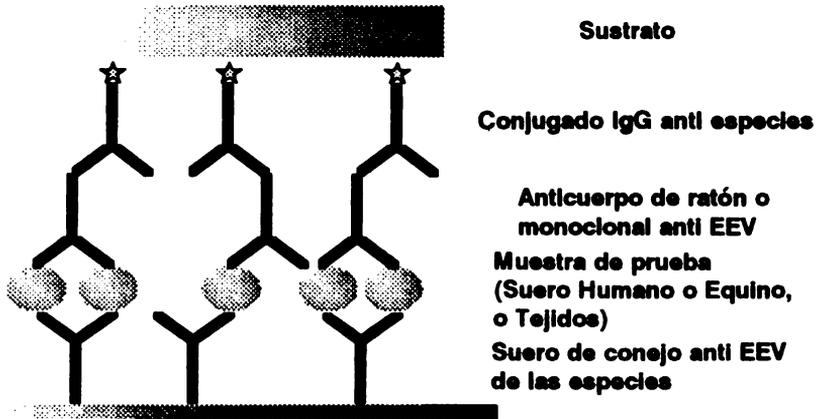
- Cultivos celulares
- Ratón lactante
- PCR
- ELISA de captura del antígeno

Identificación de los aislamientos

- ELISA de captura del antígeno
 - ELISA directa
 - PCR
 - Secuenciación del cADN
-

- Se puede obtener ELISA de captura del antígeno. En el USAMRIID hemos desarrollado una prueba que funciona como se muestra en la figura.

ENSAYO DE CAPTURA DE ANTIGENO



PRUEBA DE CAPTURA DEL ANTIGENO

Ventajas

- Rápida
- La especificidad puede ser elevada
- Bajo costo

Desventajas

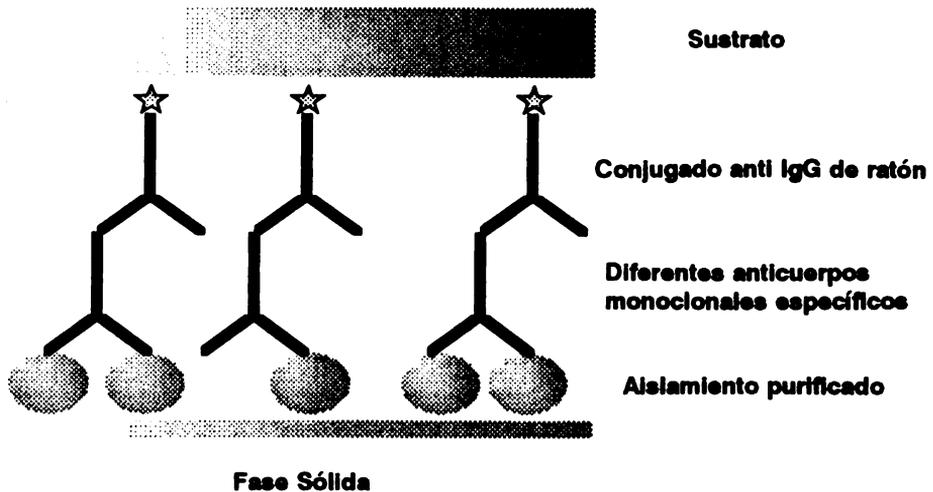
- Requiere de muchos reactivos
 - Sensible
-

- La ventaja del ELISA es que es relativamente rápida de efectuar, la especificidad puede ser elevada si se cuenta con anticuerpos de elevada especificidad como los monoclonales y la prueba es barata.

- Una de las mayores desventajas es que utiliza muchos reactivos y algunos se deben hacer en el laboratorio pues no se consiguen comercialmente. La especificidad se vuelve un problema si además se necesitan preparar anticuerpos monoclonales.

- La sensibilidad tiende a ser el principal problema. Para la detección del virus en la prueba, los títulos de virus circulante deben ser entre 5 y 6 logaritmos por ml, por lo que la hace casi inútil como herramienta para el aislamiento.

IDENTIFICACION BASADA EN ELISA



-
- Una prueba más común para identificar los aislamientos de EEV es esta variante de la ELISA clásica directa.
 - Una vez que un aislamiento se obtiene, se multiplica en cultivos, se purifica y se utiliza como un antígeno en una placa de ELISA.
 - Para el primer anticuerpo en el sistema se utilizan diferentes anticuerpos monoclonales.
 - Un problema con este ensayo es que hay carencia de un gran variedad de anticuerpos monoclonales específicos para la EEV.
 - John Roerhig hizo un panel de monoclonales contra TrD que varía en la capacidad de reaccionar en forma cruzada con otras variedades.
 - La identificación se hace con el patrón de reactividad de estos anticuerpos con el nuevo aislamiento.
 - Otros anticuerpos monoclonales serán muy útiles.

DIAGNÓSTICO BASADO EN PCR

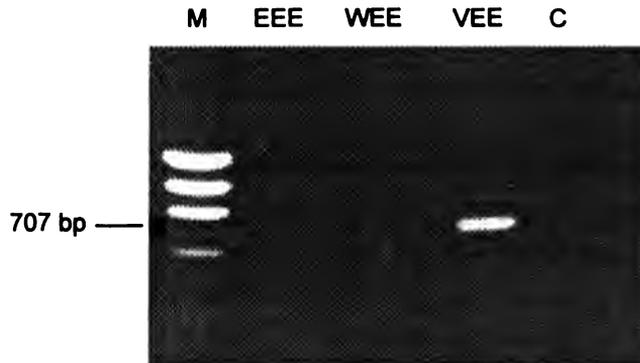
Ventajas

- Rápido
- La especificidad puede ser elevada

Desventajas

- Requiere de muchos reactivos
 - Sensible
 - Requiere equipo especial y reactivos
 - Relativamente cara
-

ESPECIFICIDAD DE LOS INICIADORES DE EEV



-
- Para dar un ejemplo de la especificidad de la prueba, aquí se presentan los resultados de la reacción de PCR utilizando iniciadores específicos para EEV contra varios alfavirus.
 - La especificidad puede ser manipulada de acuerdo al trabajo específico.

PCR-EIA

**Amplificación y marcado
utilizando iniciadores
específicos para el virus**

Deenaturalización

Hibridación

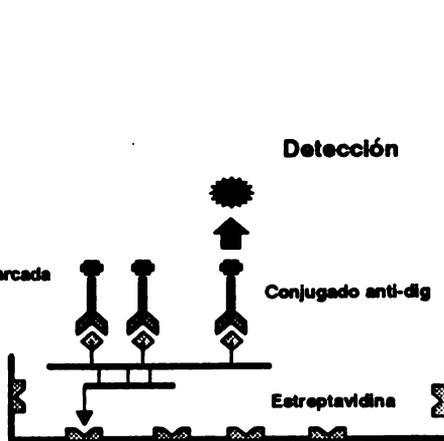
**Sonda específica marcada
con biotina**

Inmovilización

Detección

Conjugado anti-dig

Estreptavidina



- Una simple modificación al sistema básico de PCR puede dar una prueba que elimine la necesidad de geles y puede proveer un resultado cuantificable y del subtipo del aislado, en un solo paso.

PCR-EIA

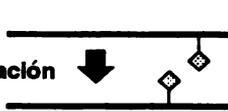
**Amplificación y marcado
utilizando iniciadores
específicos para el virus**



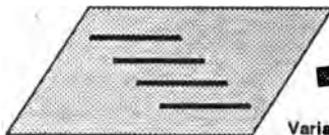
Desnaturalización



Hibridación

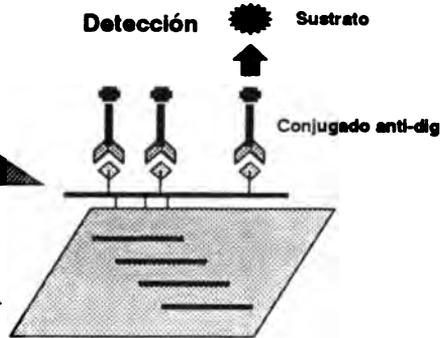


Inmovilización



Varias sondas específicas

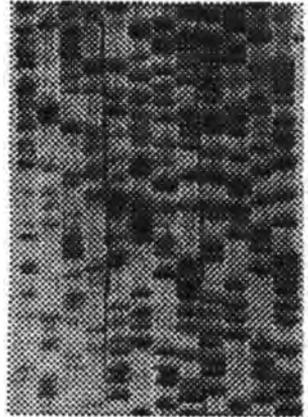
Detección



-
- En otra modificación del procedimiento estándar del PCR, varias de las sondas específicas son preinmovilizadas sobre un sustrato sólido como la nitrocelulosa. La detección es hecha de la misma manera que en la prueba anterior
 - La ventaja es que esta clase de prueba puede ser elaborada en cantidad considerable y suficiente para un fácil control de calidad y distribución.

SECUENCIACIÓN DEL cADN

- Identificación precisa
- Los nuevos métodos son rápidos
- Se debe contar con aislamientos
- Relativamente caro
- Requiere de entrenamiento y equipo especializado



-
- Finalmente me gustaría discutir la importancia del secuenciamiento del ADN para el diagnóstico.
 - Puede ser hecho directamente de la reacción de PCR y fue lo que se hizo con los aislados de Colombia de 1995.
 - Es un componente esencial del diagnóstico basado en PCR.
 - Las bases de datos de las secuencias parciales y las completas se han hecho muy grandes.
 - Mucho se puede aprender de la secuenciación.

IV. SITUACIÓN DE LAS ENCEFALITIS EQUINAS EN LAS AMÉRICAS ¹

Alfonso Ruíz

A. Introducción	67
B. Encefalitis equina del este (EEE)	67
C. Encefalitis equina del oeste (EEO)	68
D. Encefalitis equina venezolana (EEV)	68
E. Consideraciones generales sobre la situación de las encefalitis equinas en América Latina y el Caribe	70
F. Propuesta para la reactivación de la vigilancia epidemiológica regional de las encefalitis equinas	71
1. Fortalecimiento del diagnóstico de laboratorio	71
2. Vigilancia epidemiológica	72
a. Caracterización epidemiológica	73
b. Notificación e investigación de casos y brotes	73
c. El sistema de información	74
d. Centinelización	74
e. Investigación	75
1) Caracterización viral	75
2) Caracterización antigénica de la cepa vacunal	76
3) Inmunidad post-vacunal de los equinos para EEV	76
3. La colaboración intersectorial	76
4. La participación social	77
Referencias	78

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MEXICO, Chiapas, México, 1996.

A. INTRODUCCIÓN

Las encefalitis equinas son zoonosis virales transmitidas por mosquitos que ocurren en forma de episodios estacionales causando brotes en los equinos y con menos frecuencia enfermedades en humanos.

El agente causal pertenece al género de los *Alfavirus* de la familia *Togaviridae*. Tres virus de este género son de importancia puesto que causan enfermedad tanto en los solípedos como en los humanos: Encefalitis Equina del Este (EEE), Encefalitis Equina del Oeste (EEO), Encefalitis Equina Venezolana (EEV). Un cuarto miembro de este género, el virus de Highlands J., sólo se ha reportado en el este de los Estados Unidos especialmente en Florida, asociado a casos de encefalomiелitis en equinos (2). Cada uno de estos virus tiene un ciclo silvestre que incluye ciertos vertebrados y diversos vectores, particularmente mosquitos.

Los signos clínicos y cambios histopatológicos que se observan en las encefalitis equinas tanto en humanos como en animales, son similares, no así la morbilidad y mortalidad que difieren de acuerdo al tipo de infección.

B. ENCEFALITIS EQUINA DEL ESTE (EEE)

El virus de la EEE ocurre en Norte, Centro y Sur América presentándose variaciones antigénicas del virus en las diversas regiones y con vectores diferentes.

En el oriente de los Estados Unidos, el virus circula permanentemente en aves, en especial en áreas pantanosas, siendo el mosquito *Culiseta melanura* el vector incriminado. En otras áreas, se ha encontrado el *Aedes sollicitans*, un mosquito que abunda en regiones cenagosas de agua salobre, el cual transmite el virus a las aves, equinos y humanos. En países tropicales de las Américas los principales vectores son *Aedes taeniorhynchus*, *Culex taeniopus*, *Culex panacossa* y *Culex durni* (1).

El hombre y los equinos son huéspedes accidentales y puntos terminales de la cadena de transmisión. Esta encefalitis no es frecuente en el hombre, pero en cambio causa una elevada letalidad cercana al 50% y en niños menores de 5 años la infección puede dejar secuelas permanentes de diversa gravedad.

La letalidad en los caballos con signos de encefalitis asciende del 75 al 90%. En igual forma, el virus de EEE causa elevada mortalidad en faisanes. Se ha comprobado una asociación entre la ocurrencia de casos humanos y equinos de EEE y el exceso de precipitación pluvial.

C. ENCEFALITIS EQUINA DEL OESTE (EEO)

El virus de EEO está presente en los Estados Unidos, Canadá, México y algunos países de América del Sur. En los Estados Unidos se reconoce una zona endémica en el Valle Central de California en donde se observan brotes esporádicos, pero la enfermedad se presenta en otras partes del país.

En los equinos los casos suelen ser esporádicos al principio, adquiriendo luego características epizooticas.

El principal vector en los Estados Unidos es *Culex tarsalis* y posiblemente *Aedes dorsalis* (8). En el Este, el vector es *Culiseta melanura*, mosquito esencialmente ornitofílico, lo cual explicaría la ausencia de casos humanos y la baja frecuencia en equinos.

Los reservorios naturales del virus de la EEO son las aves, especialmente paseriformes las que desarrollan una corta viremia de dos a cinco días durante la cual los mosquitos se infectan al alimentarse de estas aves (2). Las aves silvestres mantienen el virus en la naturaleza hasta 10 meses después de su infección. Los huéspedes que desarrollan enfermedad son los humanos y los caballos. La tasa de mortalidad en humanos varía de 5 a 10% y de 10 a 50% en los solípedos.

D. ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (EEV)

El virus de la EEV sólo ha sido comprobado en el continente americano y es conocido como agente causal de encefalitis de los caballos desde 1938.

Grandes epizootias de EEV ocurrieron en Colombia, Venezuela, Trinidad y Perú entre los años 1955 y 1959. En 1967 surgió un brote epizootico en diversas regiones de Colombia, que se extendió al Perú y Ecuador y de allí en 1969 a Centro América, llegando a afectar a todos los países, exceptuando Panamá, para alcanzar finalmente a México y Texas en los Estados Unidos de Norteamérica en 1971.

El virus de la EEV ha sido clasificada en seis subtipos I al VI, según se indica en el Cuadro 1. Antiguamente se creía que los subtipos y variantes enzoóticos no eran patógenos para los solípedos y producían en ellos inmunidad que les protegía contra las variantes epizooticas. Sin embargo, esta hipótesis está por revisarse, dada la variabilidad y mutagenicidad de los virus que pueden dar lugar a nuevas variantes epizooticas. Recientemente, en 1993 se presentó en México una

epizootia, de la cual se aisló y caracterizó el virus como IE, conocido como enzoótico.

El ciclo silvestre se observa en las selvas húmedas de la América Tropical y en regiones pantanosas, donde la transmisión del virus es enzoótica y se desarrolla entre roedores y varias especies de mosquitos del genero *Culex*. El hombre puede infectarse al penetrar en el ecosistema enzoótico. El ciclo epizoótico se mantiene entre los équidos y varios mosquitos equinófilos. En el hombre, la infección con cepas enzoóticas pueden causar enfermedad y aún la muerte, cuando se expone a los mosquitos vectores en el ambiente silvestre (1).

Las epizootias son producidas por virus de las variantes A-B del subtipo I. Suelen ser explosivas y dramáticas. La infección de los solípedos puede llegar en condiciones extremas a cifras cercanas al 100% y la mortalidad puede ocurrir entre el 20% y el 40% de la población total, con una tasa de letalidad que sería del 38% al 83% (9).

La Encefalitis Equina Venezolana en el hombre se manifiesta comúnmente por enfermedad febril indiferenciada y benigna acompañada de cefalea, mialgias, faringitis y leucopenia con linfopenia. Los casos clínicos generalmente ocurren entre el 11% y 20% de la población general, pero pueden llegar a cifras mucho más altas. La mortalidad es baja y se ha estimado entre el 0.2% y el 1.0% de los casos clínicos. Se ha observado una incidencia de casos encefalíticos de 4% en niños y 0.4% en adultos infectados. En una epidemia en la Guajira venezolana se observaron malformaciones congénitas, inclusive anencefalia en fetos de madres que sufrieron la enfermedad durante el embarazo ².

Los vectores que participan en las epizootias son diversos: *Psorophora confinnis*, *Psorophora discolor*, *Mansonia titillans*, *Mansonia indubitans*, *Aedes taeniorhynchus*, *Aedes sollicitans*, *Aedes scapularis*, *Aedes thelcter*, *Deinoceritis pseudus*. Los aislamientos del virus logrados en *Aedes aegypti*, lo sugieren como vector de hombre a hombre (1).

Otros animales pueden infectarse durante las epizootias, como los bovinos, porcinos y perros pero sólo se ha comprobado la enfermedad en el perro.

² En el Istmo de Tehuantepec en México se observó un fenómeno similar durante la epizootia en 1970 (Goldsmith R. y Zárate, M.L.)
Nota del editor

Generalmente los casos equinos preceden a los humanos y estos disminuyen y cesan, cuando se agota la población de solípedos susceptibles que mantiene la infección de los vectores.

E. CONSIDERACIONES SOBRE LA SITUACIÓN DE LAS ENCEFALITIS EQUINAS EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE

En los últimos 15 años la vigilancia de las encefalitis equinas ha decaído en la mayoría de los países de América Latina y el Caribe, hasta el punto que en el presente se desconoce su situación. Pocos países continúan reportando casos clínicos compatibles con las encefalitis equinas, sin confirmación de laboratorio. En América Latina y el Caribe prácticamente se ha dejado de operar el diagnóstico de laboratorio. En las Américas solo hay seis países con facilidades para el diagnóstico de laboratorio; sin embargo, aquellos ubicados en países de América Latina tienen limitaciones técnicas para el aislamiento y tipificación del virus (Cuadro 2). El Centro para el Control de Enfermedades (CDC) de Fort Collins en los Estados Unidos, tiene restricciones para recibir muestras de material infeccioso de otros países, por lo cual no puede brindar el servicio de referencia internacional.

Algunos países continúan utilizando el sistema de información semanal por cuadrantes del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA), al cual notifican la ocurrencia de síndromes compatibles con encefalomielitis equina de origen viral, ubicando el lugar de ocurrencia en las coordenadas de cada país.

En el Cuadro 3 se presenta un resumen de la información de los países durante el período de 1989 a 1994. Se hace notar la escasa participación de los países ya que sólo estaban informando Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Paraguay y Venezuela. En 1994 comenzaron a reportar Panamá y Perú (7,8). De los países anteriormente enumerados, sólo Colombia ha enviado la totalidad de los reportes semanales desde 1989.

Con la escasa información suministrada durante el período de octubre de 1989 a diciembre de 1994, se ha podido constatar la existencia de áreas enzoóticas en diversos países donde frecuentemente se reportaron episodios clínicos de encefalitis equinas. Como ejemplo en el Cuadro 4 y en las Figuras 1, 2 y 3, se ilustran la localización de estas áreas en algunos países. La distribución y extensión de estas áreas es una aproximación ya que no se dispone de mayor información.

Durante el período de 1993 a 1994 se notaron algunos cambios en la situación epidemiológica de algunos países en tanto otros como Brasil, El Salvador y Venezuela siguieron presentando focos en las mismas áreas enzoóticas. En Colombia se registraron focos de enfermedad encefalítica en equinos en dos localidades no reportadas anteriormente. Una de las nuevas zonas enzoóticas corresponde a la unión de los ríos Meta, Aripuro y Cravo Norte, donde se reportaron focos en la semana 23 de 1993. La otra región nueva está ubicada en Tumaco, Departamento de Nariño.

En este mismo país se notó una mayor actividad durante el año de 1994, particularmente durante los meses de agosto y noviembre.

En Guatemala se han continuado reportando focos en el área enzoótica de Mita y Lago de Guija. Lo mismo ha ocurrido en el Petén y en el borde noroeste del río Motagua con la frontera de Honduras.

Como en años anteriores, la notificación de focos del síndrome de encefalitis equina, no identifican el número de animales afectados o muertos ni el tipo de virus involucrado.

F. PROPUESTA PARA LA REACTIVACIÓN DE LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA REGIONAL DE LAS ENCEFALITIS EQUINAS

La reactivación de la vigilancia epidemiológica, requiere de un esfuerzo conjunto y coordinado de los sectores de salud y agricultura de los países, con la participación activa de los propietarios de ganado caballar y de las agencias de cooperación técnica internacional. El sistema deberá coordinar las diversas actividades tendientes a coleccionar, analizar y disponer oportunamente en tiempo y espacio datos sobre la conducta de la enfermedad y los factores que condicionan su prevalencia. La falta de la confirmación del diagnóstico por laboratorio, hace prioritario este aspecto para reactivar la vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas.

1. Fortalecimiento del diagnóstico de laboratorio

a) Todos los países que en el pasado hayan reportado casos o brotes de encefalitis equinas, particularmente de EEV, deberán desarrollar laboratorios de diagnóstico, incluyendo facilidades para aislamiento viral y serología, sin pasar por alto la bioseguridad. Se incluyen entre ellos Brasil, Colombia, Venezuela, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Perú y Costa Rica.

b) Los países limítrofes de aquellos con áreas endémicas deberán tener disponibles técnicas serológicas para el diagnóstico de las tres encefalitis equinas EEV, EEE, y EEO a saber: Argentina, Uruguay, Bolivia, Paraguay, Panamá, Guyana, Surinam y República Dominicana.

c) Se desarrollarán cuatro laboratorios de referencia, que tengan la capacidad de hacer aislamiento y tipificación viral. El país anfitrión deberá tener flexibilidad para permitir el ingreso de muestras de material biológico para hacer el diagnóstico de referencia. Estos laboratorios además, deberán producir y distribuir materiales de referencia (antígenos y sueros) a los laboratorios de otros países. Asimismo, deberán proveer facilidades para la capacitación de personal por medio de cursos o por adiestramiento en servicio.

Los laboratorios de referencia deberán organizar y mantener un cepario de los aislamientos hechos en el propio país y de los otros de la Región, a los cuales se les ha proporcionado el servicio de diagnóstico. Este aspecto involucrará la necesidad de desarrollar técnicas de anticuerpos monoclonales y secuenciamiento genético para caracterización viral.

Se propone que estos laboratorios estén ubicados y proporcionen los servicios antes mencionados como sigue:

- Brasil: Apoyo a países del Cono Sur
- Colombia: Apoyo a países del área Andina y Panamá
- México: Apoyo a países de Centro América
- Venezuela: Apoyo a países del Caribe.

2. Vigilancia Epidemiológica

El conjunto de actividades de la vigilancia epidemiológica tiene por objeto detectar de manera temprana la actividad de los virus de las encefalitis con el fin de predecir y prevenir las epizootias y los casos humanos.

El indicio más común de la amenaza de un brote de encefalitis es la aparición de casos clínicos en los solípedos y si se trata de EEV, de un aumento de las enfermedades febriles no exantemáticas en el hombre. La posibilidad de que ocurran epizootias dependerá de las características epidemiológicas de cada una de las encefalitis y de la proporción de las poblaciones equina y humana con inmunidad para el virus particular.

Algunos elementos son considerados fundamentales para instrumentar el sistema de vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas.

a. Caracterización epidemiológica

La encefalitis equina venezolana (EEV) es la que causa mayor preocupación, dada la alta morbilidad y letalidad que llega a causar en los solípedos y su importancia como agente patógeno para el hombre. La posible ocurrencia de epizootias de esta encefalitis y su prevención por medio de la vacunación de los equinos, plantean la necesidad de conocer las poblaciones expuestas al riesgo. Es de esperar que las regiones en donde previamente se ha presentado actividad epizoótica vuelvan a ser escenario de ella, cuando con el paso de los años la población de equinos sobrevivientes inmunes, vaya siendo reemplazada por animales susceptibles. La experiencia enseña que mapas como los que se basan en el sistema de Hildrige permiten identificar las regiones en donde pueden surgir brotes epizoóticos y recíprocamente aquellos que permanecerán indemnes (8,12).

Será necesario conocer en estas regiones las poblaciones en riesgo humana y equina e identificar a los posibles vectores del virus.

Los estudios serológicos complementarios pueden definir la proporción de caballos susceptibles en un área y serán base para planificar las campañas de vacunación (10).

b. Notificación e investigación de casos y brotes

El sistema de vigilancia operará cuando los servicios veterinarios oficiales y privados y la población en general, tengan conciencia de la importancia de notificar cualquier caso o brote de enfermedad equina con síntomas encefalíticos. Para lograr esto, se requiere del desarrollo de un amplio programa de capacitación en los servicios veterinarios sobre la epidemiología y manifestaciones clínicas de las encefalitis equinas y de la colección y remisión de muestras para el laboratorio. De igual forma será necesaria la realización de programas educativos dirigidos a la comunidad.

Es importante determinar y diferenciar situaciones de normalidad o endemia, de aquellas de alerta o de epizootia, para lo cual los veterinarios de la zona deberán familiarizarse con la metodología de la investigación epidemiológica y con la evaluación de frecuencias. La investigación proveerá información sobre la delimitación del ecosistema epizoótico y orientará las medidas a tomar para su control (10,12).

c. El sistema de información

Las encefalitis equinas son enfermedades de notificación, de modo que los países deberán contar con un sistema para la recolección sistemática de datos y la consolidación, evaluación y distribución oportuna de la información, especialmente a los niveles de decisión y a aquellos que los requieren para actuar.

La información oportuna semanal por el sistema de cuadrantes es útil y deberá continuarse, pero se deberá hacer el seguimiento de focos y proveer información adicional útil, para conocer el proceso de la enfermedad y predecir oportunamente las epizootias.

El sistema debe establecer los flujos adecuados de la información que permitan registrar la notificación de casos sospechosos de enfermedad y muerte por encefalitis en equinos, mulares y asnales, así como para establecer los canales para que se realicen las pruebas de laboratorio que confirmarán la presencia de la enfermedad.

Se debe mantener un banco de datos con información por Departamentos o Estados, sobre predios, concentraciones de animales y coberturas vacunales (hipódromos, clubes, montas del ejército), poblaciones por especie, categorías etáreas, tipos de producción animal, ferias comerciales y de producción animal, laboratorios productores y almacenes expendedores de vacuna, así como de registros de personal y grado de capacitación del mismo. Será necesario mantener mapas de predios afectados según el tipo de diagnóstico (clínico, patológico, serológico, virológico) y del flujo de animales según destino (predio, feria, exposición, matadero) con base en la información regional (11).

Finalmente se deberán coordinar los aspectos referidos a la información y vigilancia de las encefalitis con las entidades locales y nacionales del sector salud.

d. Centinelización

El uso de animales centinelas puede aportar información relacionada con la actividad de transmisión del virus de la encefalitis equina venezolana (EEV).

La selección de áreas se hará tomando en consideración estudios retrospectivos de la información sobre antiguos brotes de EEV, en localidades que en el presente no revelen actividad viral pero existan niveles altos de anticuerpos en la población equina, presencia de anticuerpos IgM contra EEV o donde hayan ocurrido recientes reportes de casos de enfermedad equina. La cooperación de los propietarios de solípedos es indispensable. El hámster ha demostrado su

susceptibilidad para detectar actividad viral. Asimismo los solípedos no vacunados, libres de anticuerpos y procedentes de zonas sin antecedentes de encefalitis pueden ser utilizados (9,12).

La centinelización puede combinarse con la detección viral en especies de vectores de la zona, una vez que se ha encontrado actividad viral en los animales centinelas.

e. Investigación

La investigación es un elemento útil para conocer todo proceso epidemiológico, en particular las múltiples interacciones de un agente con sus huéspedes y el medio que lo rodea.

En las encefalitis equinas es preciso desarrollar estudios sobre el propio virus, sus variantes y su relación con las manifestaciones epizooticas y enzoóticas. Se señala la necesidad de conocer las variantes del virus de EEV en los diversos ecosistemas y su potencial virulencia para causar epizootias. Asimismo, será necesario conocer la estabilidad del virus vacunal TC-83 y homogeneidad entre las cepas usadas en los diversos laboratorios productores de vacunas. Finalmente, se requerirá conocer la efectividad de la cepa vacunal TC-83 aislada en 1943, contra las variantes del virus de campo de EEV que están en actividad, así como la duración de la inmunidad que esta vacuna induce en los caballos vacunados (8).

1) Caracterización viral

El aislamiento viral es necesario para comparar las características de los virus asociados con la transmisión endémica y epidémica y con la enfermedad clínica de humanos y solípedos.

Para el aislamiento se pueden utilizar muestras de sangre y tejidos de equinos afectados y de sus congéneres del rebaño que se encuentran en estado febril o también de la sangre o tejidos de animales centinelas y de mosquitos vectores.

La caracterización viral requiere técnicas de biología molecular que sólo pueden ejecutarse en un laboratorio especializado como el Centro de Referencia de la OMS para arbovirus del CDC de Fort Collins o en el Instituto de Enfermedades Infecciosas de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos (USAMRIID) en Fort Detrick.

2) Caracterización antigénica de la cepa vacunal

En la actualidad se dispone de una vacuna de virus vivo atenuado (TC-83) que ha dado resultados satisfactorios en la inmunización de equinos. La cepa viral fue aislada de un burro en Trinidad en 1943 y atenuada por pases en células de corazón fetal de cobayo llegando al pase 83, que se utiliza para la producción de la vacuna. Hasta la fecha se desconocen datos sobre posible reversión del virus vacunal, pero aún no se descarta esa posibilidad. La disponibilidad de técnicas para la caracterización genómica de los virus, hará posible comparar la cepa TC-83 aislada en 1943 con las utilizadas hoy día en los laboratorios productores de vacunas y con las cepas enzoóticas y epizoóticas de EEV.

Se han hecho análisis de oligonucleótidos por mapeo de oligonucleótidos que han demostrado relaciones entre algunos aislamientos de determinadas áreas geográficas (11). Sin embargo, estos estudios tienen limitaciones técnicas ya que no permiten una caracterización total del genoma viral.

Asimismo, se sugiere que los cambios de adaptabilidad de virus epizoóticos y enzoóticos, pueden haber dado origen por mutaciones a nuevos subtipos de los virus de encefalitis equina venezolana, lo cual amerita que se investigue el efecto protector de TC-83 contra estos mutantes.

3) Inmunidad post-vacunal de los equinos para EEV

Considerando la vacuna TC-83 una cepa atenuada, se supone que podría conferir una inmunidad de por vida. En el presente se desconoce cual podrá ser la duración causada en un animal vacunado.

Estudios realizados en el Instituto Colombiano Agropecuario durante 1971, revelaron que los caballos mantenían anticuerpos y resistían el desafío con virus epizoóticos hasta 30 meses después de ser vacunados con la cepa TC-83 (3).

3. La Colaboración Intersectorial

Las implicaciones económicas que representan las encefalitis equinas para el ganado caballar, así como los riesgos para la salud pública, ponen en evidencia la necesidad de un trabajo conjunto entre los sectores de agricultura y salud, para el desarrollo de la vigilancia epidemiológica de este complejo de enfermedades.

La conformación de comités nacionales y locales de zoonosis ha sido de valor en algunos países para definir las responsabilidades de cada sector y aunar los

recursos humanos y financieros, para la instrumentación de programas de vigilancia y prevención de las encefalitis.

4. La Participación Social

Ya se ha mencionado el papel importante que el productor pecuario y el agricultor deben tener en la notificación oportuna de casos o brotes de enfermedad encefalítica de los equinos, como una base para la operación eficaz de los sistemas de información y vigilancia epidemiológica.

La comunidad debe motivarse adecuadamente para que colabore en los programas nacionales de vigilancia, prevención y control de enfermedades. De ahí que es necesario el desarrollo de extensos y comprensivos programas educativos y de divulgación.

Los componentes educativos deberán incluir no sólo aspectos relativos al conocimiento de las encefalitis equinas y los elementos de la vigilancia epidemiológica, pero además, aspectos motivacionales que induzcan a la comunidad a participar en las acciones de prevención y control, como en el caso de las campañas de vacunación.

El desarrollo simultáneo de todos los elementos, anteriormente citados, para la reactivación de la vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas, no será posible realizarlos en todos los países, por lo cual se deberán establecer prioridades.

Se recomienda entre tanto, que todos los países en las Américas participen en el sistema de información semanal de síndromes compatibles con encefalitis equinas. Aquellos países que tienen áreas endémicas deberán hacer un esfuerzo por desarrollar el diagnóstico de laboratorio, así como hacer estudios tendientes a la caracterización epidemiológica de las encefalitis equinas, que faciliten la adopción de medidas eficaces para su prevención y control.

REFERENCIAS

- 1. Acha P, Szyfres B.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y los Animales. OPS, Publ. Científica No. 503, 2a. Ed., 1986.**
- 2. Francy, B., Wagner, B. A.: Equine encephalomyelitis in the United States 1980-1990. Use of weather variables to develop a predictive model for equine cases.**
- 3. González, G., Torres, M.: La encefalitis equina venezolana 1967-1977. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Bogotá Colombia. Informe presentado en la Reunión Fronteriza Colombia-Venezuela sobre Encefalitis Equina Venezolana y otras encefalitis, Santa Marta, Colombia, 1982.**
- 4. Instituto Nacional de Higiene " Rafael Rangel": Informe sobre el brote de Encefalomielitis Equina Venezolana en el Estado de Trujillo 1993.**
- 5. Ministerio de Agricultura y Cría: Dirección de Sanidad Animal. Situación de encefalitis equina venezolana. Informe oficial. 1993.**
- 6. OPS/OMS: Resumen de las actividades desarrolladas en encefalitis equinas durante el bienio 1989-1990. VII Reunión Interamericana de Salud Animal a Nivel Ministerial (RIMSA VII), Washington, D.C., 30 abril-2 de marzo, 1991.**
- 7. PANAFTOSA: Informe epidemiológico sobre encefalitis equinas 1989-1993.**
- 8. Ruíz A.: Situación de las Encefalitis Equinas 1989-1993. VIII Reunión Interamericana a Nivel Ministerial en Salud Animal (RIMSA), Washington D.C., 27-29 Abril 1993.**
- 9. San Martín C.: Encefalitis Equina Americana por virus transmitida por artrópodos. Material Divulgativo para los cursos de Vigilancia de Encefalitis Equina. ICA, Colombia, 1992.**
- 10. San Martín C.: Informe final de la consultoría para la instrumentación del diagnóstico serológico en las encefalitis equinas en Colombia OPS/OMS. 1992.**
- 11. Yuill T. M., Homan J.: Venezuelan equine encephalitis in Central America. Preproposal. University of Wisconsin, Madison, School of Veterinary Medicine, 1990.**

12. Zúñiga I.: Documento base para un sistema de información y vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas para la región de la Américas. OPS/OMS, Bogotá, 1991.

Figura 1. Ocurrencia de focos de síndromes compatibles con encefalitis equinas en Brasil 1989 - 1994



Figura 2. Ocurrencia de focos de síndromes compatibles con encefalitis equinas en Colombia 1989 - 1994

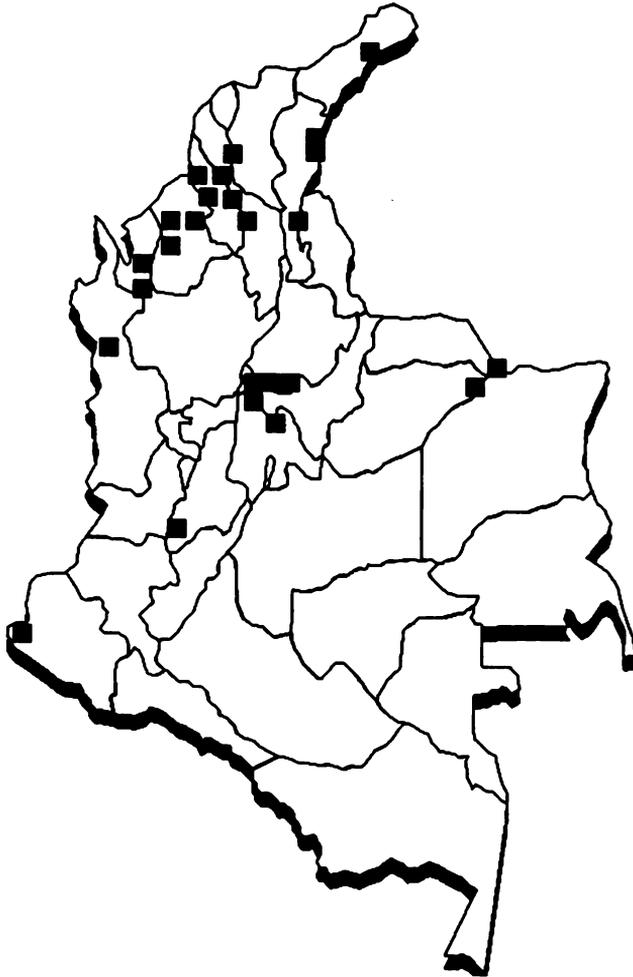
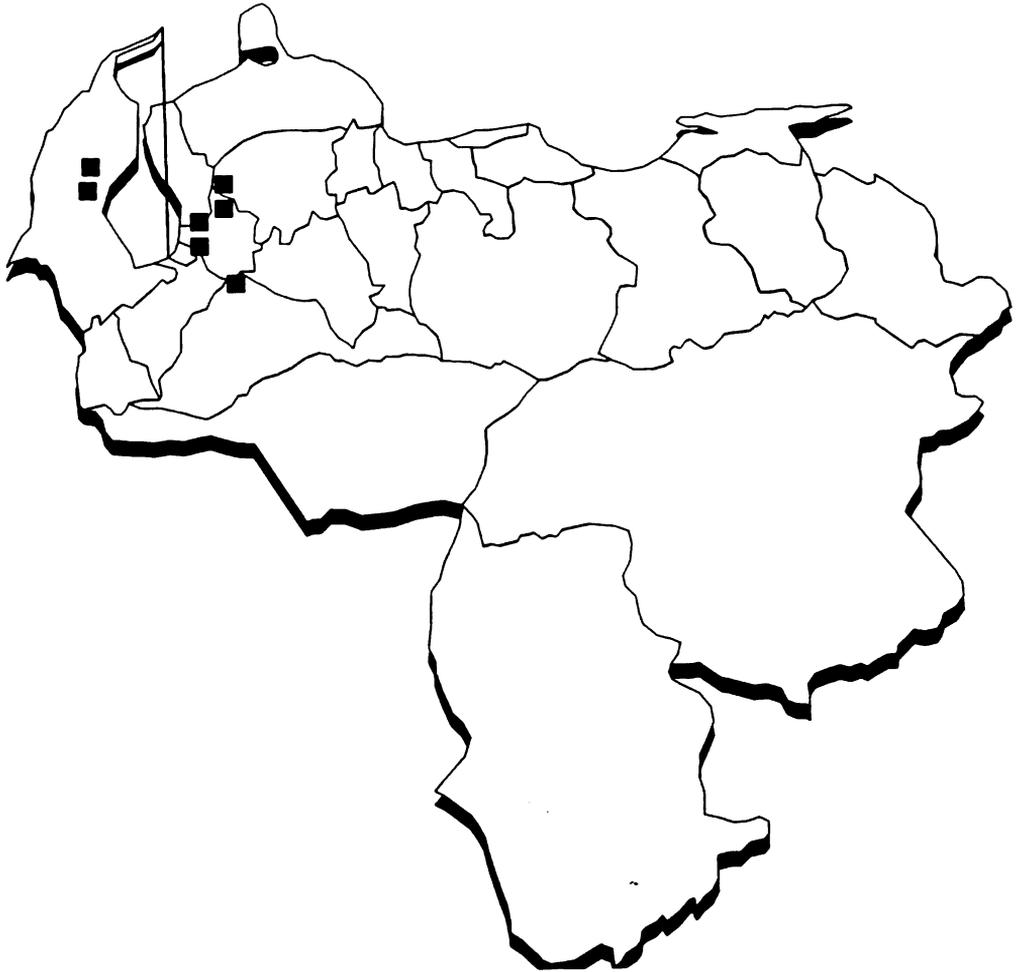


Figura 3. Ocurrencia de focos de síndromes compatibles con encefalitis equinas en Venezuela 1989 - 1994



CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DEL COMPLEJO VIRAL DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (EEV)

SUBTIPO	VARIANTE	CEPA REPRESENTATIVA	ACTIVIDAD	ORIGEN
I EEV	A	TC 83	Vacunal	Derivada de burro, Trinidad
	A	Burro Trinidad	Epizootica	Burro, Trinidad
	B	MF-8	Epizootica	Humano, Honduras
	C	P-676	Epizootica	Caballo, Venezuela
	D	3380	Enzoótica	Humano, Panamá
	E	Mena II	Enzoótica	Humano, Panamá
	F	78V-3531	Enzoótica	Mosquitos, Brasil
II Everglades		Pe-3-7c	Enzoótica	Mosquitos, Florida
III Mucambo	A	Mucambo	Enzoótica	Mono, Brasil
	B	Tonate	Enzoótica	Ave, Guayana Francesa
	C	71D-1252	Enzoótica	Mosquitos, Perú
IV Pixuna		Pixuna	Enzoótica	Mosquitos, Brasil
V Cabassou		Cabassou	Enzoótica	Mosquitos, Guayana Francesa
VI		AG-80-663	Enzoótica	Mosquitos, Argentina

* Tomado de C. San Martín. Encefalitis equinas ocasionadas por virus transmitido por artrópodos. Material divulgativo ICA, Colombia.

CUADRO 2. LABORATORIOS EN LAS AMÉRICAS QUE HACEN DIAGNÓSTICO DE ENCEFALITIS EQUINAS - 1994

PAIS	LABORATORIO	TÉCNICA UTILIZADA
Argentina	Instituto de Virología, Provincia de Córdoba	Aislamiento, Serología
Brasil	Instituto Adolfo Lutz, Sao Paulo	Aislamiento, Serología
Colombia	Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá	Serología
México	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Palo Alto	Serología, Aislamiento
Venezuela	Instituto de Investigaciones Veterinarias, Maracay Instituto Nacional de Higiene, Caracas	Aislamiento, Serología Aislamiento, Tipificación, Serología
Estados Unidos	Centro para el Control de Enfermedades (CDC) Laboratorio de referencia de Arbovirosis. Fort Collins	Aislamiento, Tipificación, Serología, Caracterización viral

CUADRO 3. OCURRENCIA DE FOCOS REPORTADOS DE SÍNDROMES COMPATIBLES CON ENCEFALITIS EQUINAS Y NÚMERO DE SEMANAS REPORTADAS, 1989-1994

PAÍS	AÑOS						
	1989	1990	1991	1992	1993	1994	
Argentina	0/10 (1)	2/52	3/52	N/I (2)	N/I	N/I	
Bolivia	N/I	6/31	0/49	0/52	0/52	0/46	
Brasil	0/2	8/41	3/41	4/52	3/49	2/52	
Colombia	2/13	11/52	8/53	28/53	7/52	19/52	
Ecuador	N/I	N/I	0/20	0/52	1/52	0/52	
El Salvador	N/I	10/9	11/19	23/24	7/27	N/I	
Guatemala	0/1	1/36	8/53	3/46	2/52	0/51	
Panamá	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	0/11	
Paraguay	0/9	0/21	0/52	0/50	0/52	0/52	
Perú	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	1/15	
Venezuela	0/5	2/49	0/46	4/52	7/52	0/52	

(1) Número de ocurrencias de focos/número de semanas reportadas

(2) No reportó (N/I)

Fuente: Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (Panafosa)

CUADRO 4. LOCALIZACIÓN ENZOÓTICA DE SÍNDROMES CLÍNICOS COMPATIBLES CON ENCEFALITIS EQUINAS REPORTADOS EN CICNCO PAÍSES, 1989 - 1994

PAIS	AREA NO.	CUADRANTES INVOLUCRADOS	UBICACIÓN
Brasil	1	2966-2967-2968-3064-3067	Alrededor de Urquirim Dam, Estado Sao Paulo
	2	3168-3169-3170	Municipios Jacupiranga, El Dorado, Cananeia, Estado Sao Paulo
	3	1373-1374-1474	Municipio Floriano, Estado Piaui
	4	1077-1178	Municipios Fortaleza, Cascabel y Pacajus, Edo. Ceará
Colombia	1	1039-1139-0939	Región de Urabá y Río Atrato, Departamentos de Antioquia y Chocó
	2	0840-0841-0741	Región Ciénaga de Oro, Lorica, Montería, Coveñas y Tolú, Departamentos de Córdoba y Sucre
	3	0742-0641	Magangué, El Banco y Calamar. Departamento Bolívar
	4	1443-1444-1343	Magdalena Medio. La Dorada, Honda y Pto. Salgar, Girardot, Departamentos de Caldas, Cundinamarca y Tolima
	5	1249	Región El Sarare, Arauca
El Salvador	1	0522-0523-0423-0720	Región de San Cristóbal, Límite con Guatemala. Departamento de Santa Ana
	2	0325-0326	Metapán, Departamento de Santa Ana
	3	0529-0530-0430	Región Dulce Nombre de María, Departamento de Chalatenango
	4	0831-0832-0833-0834-0732-0734	Departamento de Cabañas
Guatemala	1	2643	Región de Mita hasta Lago de Guija, Límite con el Salvador
	2	2346*	Límite con Ahuachapán, El Salvador
Venezuela	1	E06-E07-F06	Costa Oriental Lago Maracaibo, Estado. Trujillo, Estado Zulia
	2	E04-E05	Distritos Mara y Páez, Estado Zulia
	3	D07	La Carora y San Francisco, Estado Lara

V. ARBOVIRUS QUE CAUSAN ENCEFALITIS EN NORTE AMÉRICA

María Luisa Zárate Aquino

A. Introducción.....	88
B. Encefalitis Equina del Oeste (EEO)	89
1. Epidemiología	89
2. Transmisión.....	89
3. Datos clínicos y patológicos	89
4. Diagnóstico	90
5. Tratamiento.....	90
6. Prevención y control	91
C. Encefalitis Equina del Este (EEE)	91
1. Etiología.....	91
2. Epidemiología	91
3. Transmisión.....	91
4. Datos clínicos y patología	92
5. Diagnóstico.....	92
6. Tratamiento.....	92
7. Prevención y control	93
D. Encefalitis Equina Venezolana	93
1. Etiología.....	93
2. Epidemiología	93
3. Transmisión.....	94
4. Datos clínicos y patológicos	94
5. Diagnóstico	95
6. Tratamiento	95
7. Prevención y control	95
E. Encefalitis de San Luis (ESL)	95
1. Etiología.....	95
2. Epidemiología	96
3. Transmisión.....	96
4. Datos clínicos y patológicos	96
5. Diagnóstico	97
6. Tratamiento	98
7. Prevención y control	98
8. Brote de Encefalitis de San Luis en Sonora, México	98

F. Encefalitis de California	100
1. Etiología	100
2. Epidemiología	100
3. Transmisión	101
4. Datos clínicos y patológicos	101
5. Diagnóstico	102
6. Tratamiento	102
7. Prevención y control	102
G. Encefalitis por Virus Rocío	102
H. Encefalitis por Virus Powassan	102
Referencias	102

A. INTRODUCCIÓN

En Norte América, existen numerosos arbovirus que causan encefalitis tanto al ser humano como a los equinos (1). Para ejemplificar citaremos los hallazgos de 1985 cuando hubo el reporte en los Estados Unidos de 90 personas con cuadros de infección del SNC asociados a arbovirus (Figura 1).

Los brotes de ESL ocurrieron en la Mesa Colorado, Texas y en California. En California se identificó un caso de EEO y el virus LaCrosse se asoció con 68 casos en el Medio Oeste y afectó el SNC. No se identificaron casos humanos de EEO en el centro y este de los EUA, aunque ocurrieron casos equinos en la costa sudeste. Está bien documentado el uso de pollos como centinelas para identificar anticuerpos y actividad arboviral. También se reportaron casos en equinos asociados a la EEO en el oeste de Illinois e Indiana.

En México, en particular en el área de Hermosillo, Sonora, como extensión del área del Río Bravo, hay actividad del virus de la ESL cada año habiendo alcanzado proporciones extraordinarias en 1974 cuando se describió un brote de encefalitis (2) en una área desértica de Hermosillo, en donde numerosos canales de irrigación, mantienen su ciclo biológico entre varias especies de mosquitos y aves de corral (3).

B. ENCEFALITIS EQUINA DEL OESTE

Este virus es miembro del género *alfavirus*, de la familia *Togaviridae* (4).

1. Epidemiología

Los reportes acumulados desde 1955 muestran que cada año el número de casos de EEO en los Estados Unidos varía de 0 a 200. Las áreas más afectadas se extienden desde el Río Misisipí hasta las Montañas Rocosas. Son frecuentes los brotes mezclados de EEO y ESL.

Las epidemias se presentan al inicio del verano y pueden seguir al deshielo en primavera o a inundaciones, condiciones que favorecen la formación de criaderos de mosquitos. La encefalitis en equinos precede a los brotes en humanos. Afecta principalmente a los residentes de comunidades rurales y la incidencia es mayor en hombres que en mujeres. La EEO es más severa en infantes y niños pequeños.

La tasa de letalidad es del 3 al 5%. La tasa de infecciones inaparentes y aparentes es dependiente de la edad y es de 1:1 en los infantes de menos de un año, de 58:1 en niños de 1 a 4 años y de más de 1000:1 en personas de más de 14 años de edad.

El virus de la EEO también ocurre en Sudamérica. Las epizootias en equinos en Argentina han estado asociadas con casos humanos.

2. Transmisión

El virus circula entre aves silvestres y el mosquito *Culex tarsalis*, es el responsable de que ocurra la infección en humanos y equinos; éstos desarrollan una viremia de bajos niveles o inclusive no detectable por lo que no son capaces de perpetuar al virus, ni de completar la cadena de transmisión. En zonas templadas, la transmisión cesa por completo durante los meses de invierno.

3. Datos clínicos y patológicos

La enfermedad se inicia con síntomas semejantes a la influenza, con fiebre, cefalea, malestar y mialgias, cuadro que dura de uno a cuatro días. A estos síntomas pueden seguir somnolencia, letargo, fotofobia, vómito y rigidez de la nuca. La afectación neurológica puede progresar rápidamente con estupor, coma, convulsiones, parálisis, afectación de pares craneales, temores y reflejos anormales. En casos mortales, los pacientes mueren en uno a dos días después de iniciado el coma.

Los pacientes que sobreviven generalmente se recuperan rápidamente. Se ha visto que cerca de una tercera parte de los niños sobrevivientes quedan con retardo mental, daño cerebral, corea y parálisis espástica, muy especialmente en aquellos niños con enfermedades previas, que desarrollan convulsiones durante la fase aguda. Los adultos pueden tener convalecencia prolongada, pero las secuelas objetivas son raras. Se han dado casos de infección congénita con severo deterioro neurológico progresivo.

Es frecuente la leucocitosis con desviación a la izquierda. El LCR contiene menos de 500 células blancas/mm³, al inicio son polimorfonucleares y después mononucleares. Se eleva la concentración de proteínas.

El examen patológico del cerebro de infantes que mueren meses o años después de haber padecido la enfermedad aguda, revela destrucción masiva del neuroparénquima, con grandes quistes en muchas áreas del cerebro. En niños mayores, y adultos, la EEO aguda se caracteriza por necrosis focal e infiltración perivascular, con predominio en los ganglios basales, en los núcleos talámicos y en la profundidad de la materia blanca.

4. Diagnóstico

El aislamiento del virus a partir de la sangre o del LCR es muy raro. El diagnóstico se basa en la demostración de anticuerpos específicos en suero, buscando IgG en sueros pareados o IgM específica en una muestra sérica colectada durante la fase aguda.

5. Tratamiento

No hay tratamiento específico. Es de soporte y ha servido para reducir la mortalidad. Se basa en el control de la fiebre, de las crisis convulsivas, en vigilar el buen equilibrio de fluidos y electrolitos y en mantener permeables las vías aéreas. Deben de prevenirse las infecciones bacterianas secundarias y disminuir el edema cerebral.

6. Prevención y control

Se ha usado una vacuna inactivada con formalina producida en embrión de pollo, para proteger al personal de laboratorio pero no ha quedado definido ningún otro uso. Cuando ocurren los brotes, se previene a la población para que adopte medidas personales y colectivas de protección contra la picadura de mosquitos, de uso de insecticidas, de repelentes, de colocar tela de alambre en puertas y ventanas, que evite los eventos recreativos al aire libre por la mañana, o avanzada la tarde y en la noche. Las medidas de control del vector incluyen la aplicación de insecticidas por nebulización para eliminar al *C. tarsalis*.

C. ENCEFALITIS EQUINA DEL ESTE (EEE)

1. Etiología

Es un virus de la familia *Togaviridae*, del género *alfavirus* (4).

2. Epidemiología

La enfermedad en el hombre es relativamente rara, ocurriendo cada año algo menos de 15 casos especialmente en las costas del Golfo de México y de los estados del Atlántico, en los EUA (5). Se reporta asociado a epizootias de equinos, involucrando de 100 a 300 animales. Los brotes ocurren durante el fin del verano e inicio del otoño. También infecta a los faisanes y los brotes en estos animales preceden a la aparición de casos en humanos, con un intervalo de varias semanas o meses, de tal forma que son predictivas de enfermedad en el ser humano. También se han descrito epizootias de EEE en el Caribe, La Española y en Sudamérica.

A pesar de lo limitado de las epidemias, la severidad de la enfermedad es alta, con tasas de letalidad del 50 al 70%. La incidencia y mortalidad son más altas en niños menores de 15 años y en personas de más de 55 años.

3. Transmisión

En áreas templadas, el virus circula entre aves y *Culiseta melanura*, en pantanos de agua dulce. Las epizootias equinas y las asociadas a casos humanos resultan de una ampliación de los ciclos de transmisión cuando se involucran moscos *Aedes* y *Coquillettidia* que se alimentan en equinos y en seres humanos.

4. Datos clínicos y patología

La enfermedad es más aguda y con curso clínico más rápido que las otras encefalitis causadas por arbovirus. El inicio es brusco, con fiebre alta, vómito y somnolencia. Hay estupor, coma, mioclonos y convulsiones que aparecen en 24 a 48 hrs. La sialorrea pueden ser prominente así como la dificultad respiratoria con cianosis.

En los niños es frecuente el edema facial, periorbital y generalizado. La muerte ocurre durante la primera semana. En los pacientes que sobreviven, la recuperación se inicia durante la segunda semana y puede progresar rápidamente, asociada con curso largo sin coma. El daño residual encontrado en el 30 al 50% de los pacientes es severo, especialmente en los niños y se caracteriza por retardo mental, parálisis espástica y atrofia de la sustancia cerebral.

Hay marcada leucocitosis periférica con derivación a la izquierda. En el examen de LCR se encuentran de 500 a 2000 células polimorfonucleares/mm³. Después el recuento persiste en cifras bajas. Puede haber eritrocitos y proteínas elevadas. La glucosa es normal.

A diferencia con la ESL y la EEO, el cerebro tiene edema marcado y congestión, la respuesta inflamatoria es predominantemente polimorfonuclear. Las áreas más afectadas están a nivel de ganglios basales, tálamo, hipotálamo y corteza cerebral frontal y occipital. Son prominentes la vasculitis focal, el edema de células endoteliales con formación de trombos intravenosos y arteriolares, hay desmielinización, necrosis, neuronolisis y neuronofagia.

5. Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la serología. El aislamiento del virus a partir de sangre o de LCR es raro. Se pueden demostrar anticuerpos específicos por IH o por ELISA. Dado lo corto de la enfermedad deben tomarse las muestras cada tres días.

6. Tratamiento

Es de soporte al igual que para las otras encefalitis por arbovirus

7. Prevención y control

Se dispone de una vacuna experimental inactivada con formalina, preparada en cultivo celular de embrión de pollo; está indicada para proteger al personal de laboratorio y trabajadores del campo. También ha resultado efectiva la reducción de la población de mosquitos por aspersión de insecticidas siendo recomendable practicarla al inicio de los brotes.

D. ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (EEV)

1. Etiología

Es un virus de la familia *Togaviridae*, del género *alfavirus*. Se han conformado seis subtipos antigénicos, (I al VI) y múltiples variantes antigénicas de los subtipos I y III con base en pruebas serológicas. Los subtipos IAB y IC son responsables de epidemias que han afectado a seres humanos y a equinos. En la Florida, el subtipo II es enzoótico y produce enfermedad esporádica en los seres humanos.

2. Epidemiología

Antes de 1973 se describieron grandes epidemias y epizootias con intervalos de 5 a 10 años en Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú, afectando a muchos miles de animales, con una mortalidad del 40%. La morbilidad en humanos también fue importante, con más de 32,000 casos registrados. No fueron reportados brotes en equinos ni en humanos durante más de 20 años y no fue sino hasta que en 1993 se identificó un brote amplio en equinos residentes en las costa del Pacífico, del estado de Chiapas, México.

El síndrome predominante es autolimitado, con enfermedad semejante a la influenza; ha quedado documentado que solamente el 4% de las personas infectadas, principalmente en el grupo de menores de 15 años, desarrollan encefalitis. La infección subclínica es rara. La tasa de letalidad en niños hasta de 5 años de edad, con encefalitis es de aproximadamente un 35%, pero en personas mayores es menos del 10%. Las infecciones de laboratorio son comunes entre el personal no vacunado que trabaja con el virus o con animales infectados.

3. Transmisión

Una variedad amplia de especies de mosquitos vectores, que incluyen a especies de los géneros *Aedes*, *Psorophora* y *Mansonia* transmiten a los subtipos IAB y IC durante epidemias o epizootias. Los equinos son los huéspedes virémicos principales. Aunque el virus puede estar presente en las excreciones faríngeas y se asocia con la eliminación del virus, el contacto con aerosoles no es suficiente para establecer la transmisión de persona a persona para diseminar la enfermedad. Esta vía aunque posible, no es importante en la epidemiología de la enfermedad.

Los otros miembros del complejo EEV incluyendo los subtipos II de Florida, tienen transmisión con ciclos enzoóticos que incluyen al *Culex (Melanoconion)*, a pequeños roedores y a marsupiales. Los equinos no participan en la transmisión y la enfermedad en seres humanos es esporádica.

4. Datos clínicos y patológicos

Después de un período de incubación de 2 a 5 días, se inicia bruscamente la sintomatología con fiebre, escalofrío, malestar, cefalea, seguida de mialgias, náusea, vómito y diarrea. El examen físico del paciente revela fiebre, taquicardia, conjuntivitis y faringitis. La enfermedad aguda generalmente dura de 4 a 6 días y la convalecencia se prolonga hasta tres semanas. Se ha descrito un curso bifásico en que los síntomas agudos reaparecen después de una remisión corta, una semana después del inicio.

Algunos pacientes muestran afectación del SNC con fotofobia, somnolencia y confusión durante el inicio. La encefalitis severa se caracteriza por signos meníngeos, convulsiones, temores, estupor, coma, parálisis espástica, reflejos anormales, parálisis de nervios craneales y falla respiratoria central. Los daños neurológicos residuales ocurren en casos severos. La infección en mujeres embarazadas que cursan el primero y segundo trimestre puede complicarse con encefalitis fetal y muerte del producto.

El conteo de leucocitos periféricos es bajo, con disminución en linfocitos y neutrófilos. El LCR contiene más de 500 células predominando los linfocitos. Se elevan la deshidrogenasa láctica y la transaminasa glutámica oxalacética.

Los cambios patológicos en el SNC incluyen edema, congestión meníngea y perivascular, inflamación, hemorragia intracerebral, degeneración neuronal y vasculitis. Además hay degeneración hepatocelular y necrosis, depresión diseminada de tejido linfoide, necrosis folicular y neumonitis intersticial.

En la infección congénita, el feto tiene necrosis masiva y diseminada del tejido cerebral, hemorragia y disminución de material cerebral con hidroencefalopatía.

5. Diagnóstico

A diferencia de otras encefalitis por arbovirus, el virus puede ser aislado de la sangre y exudados faríngeos durante los primeros 3 a 4 días de la enfermedad. El serodiagnóstico es más práctico y se basa en la cuantificación de anticuerpos específicos por IH en dos muestras séricas o de IgM por ELISA en muestras séricas colectadas en la primera semana de la enfermedad (6).

6. Tratamiento

El tratamiento es como para las otras encefalitis, inespecífico y de soporte.

7. Prevención y control

Se cuenta con una vacuna experimental preparada con el subtipo IAB y es administrada al personal de laboratorio que maneja estos virus. Provee una sólida inmunidad para este subtipo y sus relacionados IC, pero incompleta para otros virus heterólogos del complejo EEV. Las epidemias y epizootias pueden prevenirse vacunando a todos los equinos. La aspersión de insecticidas para reducir la población adulta infectada de mosquitos, es el único medio de control inmediato al enfrentar una epidemia. También es recomendable la protección individual contra la picadura de mosquitos. Se revisa con detalle este virus, en el Capítulo de la EEV en México.

La distribución geográfica del virus de la EEV en el continente Americano aparece en la Figura 2.

E. ENCEFALITIS DE SAN LUIS (ESL)

1. Etiología

El virus de la Encefalitis de San Luis pertenece a la familia *Flaviviridae* ; comparte una relación antigénica cercana con los virus de la encefalitis japonesa (EJ), encefalitis del Valle Murray (EVM), del Oriente del Nilo (ON), de la fiebre amarilla (FA) y del dengue (DEN) (7). Las cepas que circulan con ciclos de transmisión del *Culex pipiens* se asocian con epidemias en el este de los EUA y son distintas de las cepas endémicas transmitidas por el *C. tarsalis* en los estados del oeste de la los Estados Unidos.

2. Epidemiología

El virus se encuentra en todos los países del hemisferio oeste, pero las epidemias ocurren únicamente en Norteamérica, desde luego en México y en algunas Islas del Caribe. Durante los años de epidemia el virus ha sido responsable hasta del 80% de todos los casos reportados de encefalitis de etiología conocida en los EUA. En años recientes han ocurrido epidemias de hasta 2000 casos principalmente en localidades urbanas y suburbanas de Ohio, en las riberas del Misisipí, en el este y centro de Texas y en la Florida (8). La inmunidad al dengue puede proveer cierto grado de protección cruzada contra la ESL clínica.

El promedio de letalidad es del 90%. La mortalidad es rara en menores de 20 años pero aumenta después de los 55 hasta un 30% en pacientes de más de 65 años. La tasa de infecciones inaparentes/aparentes es de 800:1 en niños hasta de 9 años; de 400:1 en personas de 10 a 49 años y de 85:1 en personas de más de 60 años.

3. Transmisión

En el este de los Estados Unidos el virus de la ESL circula entre aves silvestres y el *C. pipiens* que se cría en agua sucia. En la Florida y en el Caribe, el *C. nigripalpus* es el principal vector (8). Su ciclo biológico del oeste de los EUA también involucra a aves silvestres, pero el vector es el *C. tarsalis*. Como el vector de la EEO, requiere de una ecología similar, se dan brotes mixtos de ESL y EEO en el oeste, principalmente en áreas rurales y agrícolas.

La temperatura promedio en verano y las condiciones de escasas lluvias crean estanques adecuados para criaderos de *C. pipiens* lo que determina epidemias en el este de los EUA (9).

En los estados del oeste, la ESL se ve favorecida por las temperaturas agradables de primavera y el agua del deshielo e inundaciones.

4. Datos clínicos y patológicos

Para la ESL se reconocen tres síndromes clínicos:

- a. Febril con cefalea
- b. Meningitis asépticas
- c. Encefalitis

Después de un período de incubación de 4 a 21 días se sigue un período variable con síntomas inespecíficos que incluye fiebre alta, cefalea, malestar, mareo, mialgias y faringitis. Este cuadro puede ser seguido del inicio agudo o subagudo de signos meníngeos o de encefalitis, o ambos, con náusea, vómito y fotofobia.

Las complicaciones neurológicas ocurren en el 25% de los casos, con alteraciones extrapiramidales: temblor de lengua, cara y miembros, y un estado alterado de conciencia. Otras veces hay alteración sensorial, meningismos, afectación de nervios craneales (VII par) reflejos anormales, mioclonia, nistagmus, y ataxia. Las anomalías motoras son raras y los cambios sensoriales lo son más. Cuando hay convulsiones son de pronóstico grave así como la persistencia de fiebre alta. El aumento de la presión intracraneal es muy rara. El síndrome de Guillain Barré se ha visto asociado en la fase aguda y en la convalecencia. La mitad de los pacientes con curso grave mueren en la primera semana y el 80% en la segunda semana de iniciados los síntomas.

Los casos complicados tienen leucocitosis neutrofilica con desviación a la izquierda. En el LCR hay proteínas elevadas y glucosa normal. Hay hasta 500 células, predominando las polimorfonucleares al inicio y los linfocitos después. Hay síntomas genitourinarios, urgencia, incontinencia y retención, hematuria microscópica, piuria, proteinuria, urea sanguínea elevada. El antígeno viral de ESL puede detectarse en las células del sedimento urinario por inmunofluorescencia y microscopía electrónica.

Durante la convalecencia hay debilidad, fatiga, nerviosismo, insomnio, irritabilidad, depresión, dificultad en la concentración y cefalea en el 30 a 50% de personas; la sintomatología se reduce en un 80% en los siguientes tres años.

Los cambios patológicos de casos mortales se limitan a leptomeningitis, con la inflamación linfocitaria, linfocitosis perivascular, formación de nódulos celulares y degeneración neuronal, cambios en el tálamo e hipotálamo, corteza cerebral y ganglios basales.

5. Diagnóstico

Es muy raro aislar el virus de la sangre o de LCR colectados durante la fase aguda. El diagnóstico es generalmente serológico por IH en dos muestras y por cuantificación de IgM específica por ELISA. El diagnóstico puede dificultarse por la existencia de anticuerpos cruzados al dengue y otros flavivirus.

6. Tratamiento

El tratamiento es de soporte e inespecífico.

7. Prevención y control

No hay vacuna disponible. Con la vigilancia epidemiológica de la actividad viral en vectores naturales y huéspedes (aves silvestres o de corral) se puede establecer el riesgo de infección que corre la población humana y apoyar el inicio de actividades de control del vector.

Cuando ya se han establecido los brotes, los únicos métodos efectivos de control son el evitar la picadura de mosquitos y la fumigación con insecticidas para reducir la población de mosquitos adultos infectados.

8. Brote de Encefalitis de San Luis en Sonora, México

A mediados de 1974, en el Municipio de Hermosillo, Sonora, hubo un brote de encefalitis (2). El municipio contaba con alrededor de 273,000 habitantes viviendo la mayoría en la ciudad de Hermosillo. La región en que ocurrió es árida, plana y cálida pero cuenta con un extenso sistema de irrigación que procede de la Presa Abelardo Rodríguez, situada al Este de la ciudad. En dirección al mar hay varios poblados, La Manga y La Costa, entre otros. Está muy extendida la cría de aves de corral, pollos y pavos y mantenían una existencia promedio de dos millones de aves.

Entre enero y junio se habían producido en varios puntos de Sonora, 7 defunciones con cuadros neurológicos en niños de 9 meses a 14 años de edad. En Arizona y California, EUA, se había mostrado actividad de este virus en mosquitos capturados.

Entre el primero de agosto y el 21 de septiembre se presentaron 51 casos que fueron hospitalizados con cuadro clínico de encefalomielitis. Eran residentes de Hermosillo y La Costa. La zona sur acumula la mayoría de los casos. La Manga fue notoriamente afectada; de 5 hospitalizados, tres fallecieron. Hubo transmisión sostenida por ocho semanas. En septiembre ocurrieron 5 de las 10 defunciones. En la Manga con 772 habitantes, se identificaron además de 5 pacientes hospitalizados, 9 enfermos adicionales con síntomas de cefalea, náusea, vómito y fiebre; por abajo de los 25 años se acumuló el 69% del total de casos. No fueron detectadas epizootias en animales domésticos o silvestres.

El cuadro clínico en la mayoría de los casos fue muy severo y complejo. La traqueotomía fue necesaria en 5 pacientes, la hospitalización fue hasta de 33 días; la duración del padecimiento osciló entre 3 y 42 días.

Los sueros de los pacientes estudiados fueron todos positivos por IH para la ESL y solamente el 65 % resultó positivo para la EEV; en los sueros pares que se probaron hubo incremento significativo para la ESL, lo que no se observó para la EEV. Hubo una buena correlación para la ESL en las pruebas de IH, FC y N. En la encuesta serológica de la población abierta, el 47% demostró la presencia de anticuerpos IH en títulos que llegaron a 1:640. Del reclusorio local, el 45% de la población estudiada presentó anticuerpos que llegaron a títulos de 1:80. En la granja "Cruz del Norte" para enfermos mentales, el 95% tenía anticuerpos IH. Coincidiendo con la epidemia, fueron sangradas gallinas de 8 semanas de edad y se encontró que el 19% tenían anticuerpos IH. Seis meses más tarde se estudiaron aves, procedentes de dos granjas y por IH se encontró que el 90% mostraba anticuerpos con títulos hasta de 1:1280 (2).

La circulación del virus de la ESL en apariencia ha ido en aumento en los últimos años. Los médicos pediatras muestran familiaridad con los cuadros clínicos de este tipo sugiriendo la existencia previa de una epidemia de encefalitis viral a bajos valores. La mayor cantidad de casos en menores de 10 años puede ser indicio de una alta susceptibilidad en los jóvenes más que en los adultos, lo que concuerda con la idea de que en la región ha estado presente en forma endémica este virus, en los últimos 25 años. Existe la posibilidad de que las aves estén incluidas en el ciclo biológico del virus. Hay que pensar en la posibilidad de secuelas tardías sin olvidar el alto porcentaje de sujetos internos en la granja para enfermos mentales que tienen anticuerpos. La severidad clínica, con la alta letalidad, las complicaciones que requieren traqueotomía, larga hospitalización, con numerosas recaídas, indican que el costo económico social es excesivo. La serología positiva para la EEV coincide con el registro de que entre el 21 de agosto y el 19 de septiembre de 1972, se presentaron 4,475 casos humanos y 1,167 muertes en equinos por un brote de EEV.

El virus de la ESL no ha dejado de circular en la región ocurriendo periódicamente casos en las zonas del Valle del Bravo en el Sur de los EUA. En años recientes se ha descrito una amplia actividad en los Estados de Florida y Texas durante el tercer trimestre de cada año.

La continuidad geográfica entre los EUA y México, la participación de aves locales y posiblemente de aves migratorias, hacen suponer que el peligro de que ocurran epidemias extensas de ESL en México es constante y requiere de programas de vigilancia epidemiológica y de medidas de control del vector, ante la ausencia de una vacuna. La presencia de actividad del virus en el Este de los Estados Unidos de Norteamérica desde 1990, pone en peligro a un gran número de pobladores de estas zonas y de las zonas limítrofes con México.

Para otros arbovirus se han llegado a identificar anticuerpos específicos y probablemente la infección cursa como cuadros febriles indiferenciados.

F. ENCEFALITIS DE CALIFORNIA

1. Etiología

Existen por lo menos cuatro miembros del serogrupo California, del género *Bunyavirus* de la familia *Bunyaviridae*; los virus LaCrosse, encefalitis California, Jamestown Canyon, y Snowshoe hare, que causan encefalitis en el ser humano. El virus EC existe en el oeste de los EUA, California, Nuevo México, Utah, Texas. En contraste, LaCrosse, está distribuido más ampliamente en la mitad este de los EUA y el sur de Canadá donde es el principal patógeno del hombre. Recientemente, los virus Jamestown Canyon y snowshoe hare han estado asociados con casos esporádicos de encefalitis en humanos en el norte y centro de los EUA y en Canadá, Los virus California han estado causando enfermedad en el hombre, en la República de China y en la ex Unión Soviética (10).

2. Epidemiología

La encefalitis California ocurre en forma endémica más que epidémica, como casos aislados o en pequeños grupos de casos salteados a lo largo de las áreas afectadas con un promedio de 80 casos cada año, entre julio y septiembre, con pico en agosto.

El virus afecta a personas de menos de 15 años que viven en áreas rurales y suburbanas con bosques de madera (11). Es más prevalente en los estados del norte y centro de los EUA, en donde es responsable de hasta el 20% de casos de infección aguda del SNC en niños. Se han podido identificar comunidades e incluso traspatios con actividad recurrente en el verano. La letalidad es de menos del 1%. La tasa de casos inaparentes/aparentes ha sido estimada entre 26:1 y 157:1.

3. Transmisión

El vector del virus LaCrosse es el *Aedes triseriatus*, que se cría tanto en agujeros de troncos en bosques, como en contenedores peridomiciliares artificiales. El vector también sirve como un reservorio para el virus LaCrosse. Los roedores silvestres, diferentes variedades de ardillas (chipmonks) conforman el ciclo de transmisión como huéspedes virémicos. El ser humano adquiere la enfermedad por la picadura de mosquitos infectados.

4. Datos clínicos y patológicos

El espectro clínico asociado al virus de la encefalitis California incluye:

- a. Enfermedad febril inespecífica
- b. Meningitis aséptica
- c. Meningoencefalitis

La enfermedad se inicia con fiebre, cefalea, dolor de garganta, síntomas gastrointestinales, con la aparición de los síntomas neurológicos uno a tres días después.

En los casos benignos, los signos del SNC aparecen al tercer día y persisten de 7 a 8 días.

En los casos más severos los signos neurológicos aparecen a las 24 hrs del inicio, generalmente con mareo y alteración de la conciencia. La enfermedad es más prolongada. Con frecuencia hay papiledema y alteraciones del nervio óptico, la encefalitis puede ser muy severa en el estado agudo, pero la enfermedad es autolimitante y la muerte es muy rara.

Se cree que la infección por virus LaCrosse es responsable de secuelas psicológicas, debilidad emocional, hiperquinesis, infantilismo, conducta compulsiva, problemas de audición y visuales. En algunos casos persiste la hemiparesia y el vértigo.

El conteo de células blancas es elevado, predominando los polimorfonucleares con desviación a la izquierda. El LCR contiene hasta 500 linfocitos por mm³, con elevación de proteínas y glucosa normal. Los datos histopatológicos del SNC son similares a los de otras encefalitis, pero sin lesiones inflamatorias en cerebelo, médula y cordón espinal, que son característica del virus LaCrosse.

5. Diagnóstico

EL virus no puede ser recuperado de la sangre o del LCR durante la fase aguda. El diagnóstico se basa en la demostración de inmunoglobulinas específicas por IH, FC, ELISA y neutralización. Los más sensibles son los métodos de IH y la cuantificación de IgM específica por ELISA.

6. Tratamiento

Es inespecífico y de soporte como en las otras encefalitis.

7. Prevención y control

No hay vacuna para los virus de la Encefalitis de California. Los métodos de control del vector son de dudosa utilidad en la enfermedad. Hay que descubrir los focos de actividad sobre todo la de tipo recurrente, hay que eliminar los criaderos del vector *A. triseriatus*. Los padres de familia deben proteger a los niños de la exposición al vector y la población en general debe usar mosquitero y repelentes.

G. ENCEFALITIS POR VIRUS ROCÍO

Aunque no se han identificado casos en Norteamérica, es de mencionar al virus Rocío, que es muy similar al de la encefalitis del Valle Murray (EVM) y al de la encefalitis japonesa en su patogénesis y en el cuadro clínico. Estas encefalitis son causadas por flavivirus muy relacionados serológicamente entre sí. La EVM ha ocurrido en forma de pequeñas epidemias en Australia, en el Río Darling y en Victoria. Es endémico en Nueva Guinea, completando su ciclo en aves y mosquitos.

La encefalitis por virus Rocío ha causado epidemias de hasta 1,000 casos en el estado de Sao Paulo, Brasil.

H. ENCEFALITIS POR VIRUS POWASSAN

La encefalitis asociada a este virus ha sido reportada en un total de 15 casos en el noreste de los EUA y en el este de Canadá, con una tasa de letalidad del 50%. El virus no está asociado con casos en animales. Su ciclo de transmisión comprende a *Ixodes cookei*, *I. marxi* y posiblemente a otras especies de garrapatas y a mamíferos, especialmente roedores y carnívoros.

La encefalitis Powassan se caracteriza por fiebre, síntomas inespecíficos, seguidos de cuadros severos de encefalitis. Puede quedar alguna parálisis residual. Los datos en el LCR y en sangre periférica son similares a los descritos para otras encefalitis por flavivirus.

En México existe una variedad de virus con ciclo en artrópodo (Cuadro 2).

Algunos, como los denguevirus, el de la ESL y el de la EEV infectan al ser humano (2,12) y se asocian a cuadros la mayoría asintomáticos, aunque han ocurrido brotes importantes descritos en la literatura (3).

REFERENCIAS

1. McGowan J.E., Bryan J.A., Gregg M.B.: Surveillance of arboviral encephalitis in the United States, 1955-1971. *Am. J. Epidemiol.*, 97:199-207, 1973.
2. González Cortez A., Zárate Aquino M. L., Guzmán Baena J., Miro—Abella J., Cano Avila G. y Aguilera Arroyo M.: Encefalomiелitis de San Luis en Hermosillo, Sonora, México. *Bol. Of. Sanit. Panamer.*, 80:11-22, 1976.
3. Zárate Aquino M.L.: Arbovirus, su importancia en América. Vol. 1, Publicación Técnica del INDRE No. 2, México,D.F., 1991.
4. Schlesinger S., Schlesinger M.J., (eds.): *The Togaviridae and Flaviviridae*. New York, Plenum Publishing, (Epidemiologic and virologic information) 1986.
5. Przelomski M.M., O'Rourke E., Grady G.F.: Eastern Equine Encephalitis in Massachusetts, *Neurology*, 38:736-739, 1988.
6. Rosato R.R., Mancasae F.F., Jahrling P.B.: Enzyme-linked immunosorbent assay detection of immunoglobulins G and M to Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus in vaccinated and naturally infected humans. *J. Clin. Microbiol.*, 26(3):421-425, 1988.
7. Murphy F.A.: Morphology and Morphogenesis. In: Monath T.P. (ed). *St. Louis Encephalitis*. Washington. D.C., Am. Pub. Health. Assoc., 1980.
8. Day J.F., Curtis G.A., Edman J.D.: Rainfall-directed oviposition behaviour of *Culex nigripalpus* (Diptera: *Culicindae*) and its influence on St. Louis Encephalitis virus transmission in Indian River County, Florida. *J. Med. Entomol.*, 128(1): 43-50, 1990.

9. Monath T.P. (ed.): Saint Louis Encephalitis. Washington, D.C., American Public. Health Association, 1980.
10. Calisher C.H., Thompson W.H. (eds): California Serogroup Viruses, New York, Alan R. Liss, Inc., 1983.
11. Matthews C.G., Chun R.W.M., Grabow J.D.: Psychological sequelae in children following California arbovirus encephalitis. *Neurology*, 18:1023, 1968.
12. Zárata M.L., Scherer W.F., Dickerman R.W.: Un caso probable de Encefalitis Equina Venezolana ocurrido en Jáltipan, Veracruz, México, 1965. *Salud Pública de México*, 13:97-99, 1971.

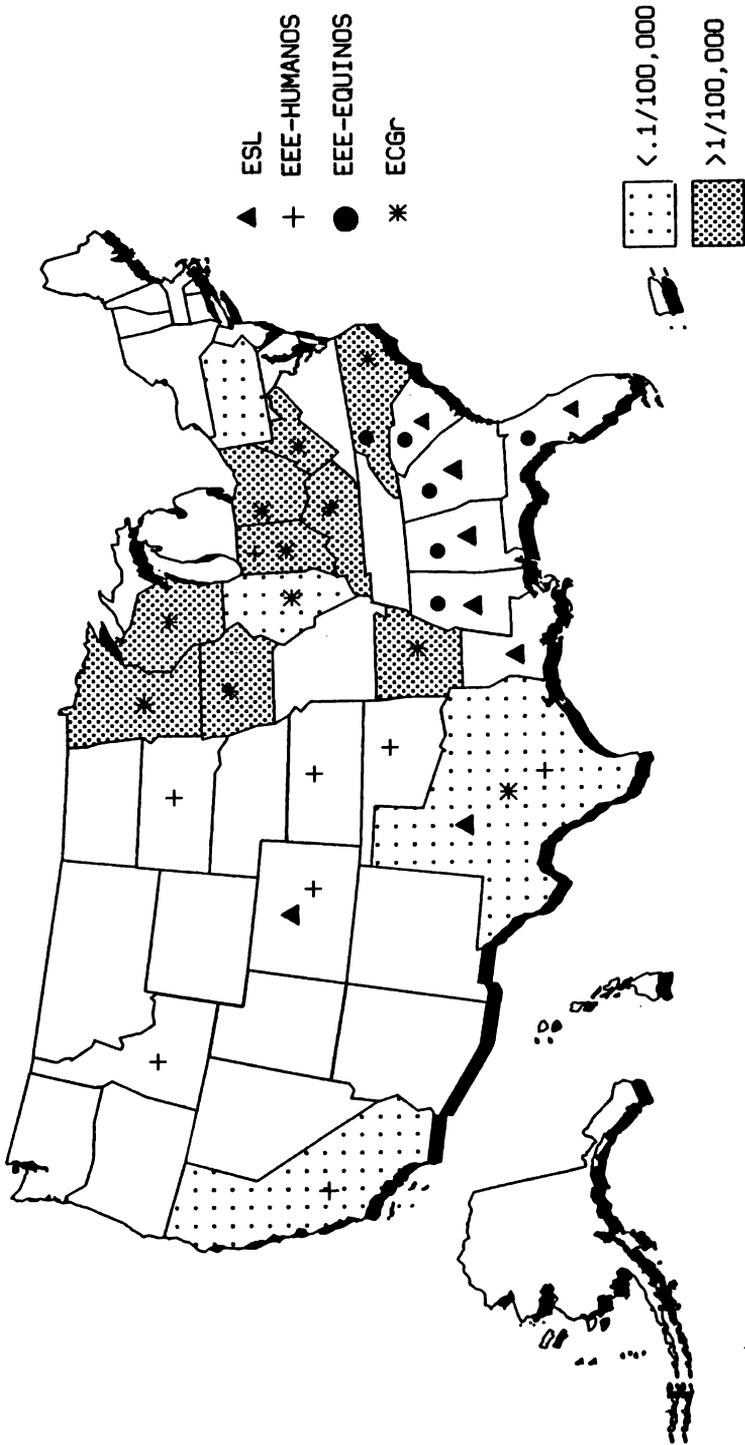
CUADRO 1. DATOS DIFERENCIALES DE LAS ENCEFALITIS CAUSADAS POR ARBOVIRUS IMPORTANTES EN LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTE AMÉRICA

Parámetros	EEO	EEE	EEV	ESL	CE
Incidencia	0 a 200/año. Infantes, niños	15/años	Raro en EU, afecta más a los niños	0 - 2,000/año, más en adultos	50-100/año en niños
Tiempo del año	Inicio del verano	Finales del verano, inicio del otoño	Verano	Fines del verano	Julio-septiembre
Letalidad	3 al 5% en niños	50 - 70% mayor en <15 y >55 años	35% en niños y <10% en adultos	9% general, 0% en <20; 30% en >65 años	<1%
Secuela neurológica	35% en niños	30 - 50% en niños	Frecuente en niños	Frecuente en niños	raro
Datos en LCR	<500 células	500-2000 células PMN	<500 células	<500 células	<500 células

CUADRO 2. LUGAR Y FUENTE DE AISLAMIENTO DE LOS ARBOVIRUS AISLADOS EN MÉXICO

Género y nombre	Año	Estado	Especie
Arbovirus			
EEE	1941	Tamaulipas	Equino
EEV (IE)	1963	Veracruz	Hámster
EEV (IB)	1970	Chiapas	Equino
EEO	1972	Durango	Mosquitos
Flavivirus			
ESL	1965	Veracruz	Garza
DEN 1	1983	Oaxaca, Chiapas	Humano
DEN 2	1983	Oaxaca, Chiapas	Humano
DEN 4	1983	Oaxaca, Chiapas	Humano
Califormia			
Trivittatus	1972	Durango	Mosquitos
Bunyavirus			
Tlacotalpan	1961	Veracruz	Mosquitos
Nepuyo	1963	Veracruz	Hámster
Minatitlán	1967	Veracruz	Hámster
Patots	1963	Veracruz	Mosquitos
Shark River	1964	Veracruz	Hámster
Zegla	1964	Veracruz	Hámster
Turlock	1972	Durango	Mosquitos
No agrupado			
Flanders	1972	Durango	Mosquitos

FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS INFECCIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL CAUSADAS POR ARBOVIRUS EN LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA



VI. LA SITUACION DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN MEXICO HASTA 1980

Antonio Morilla González

A. Introducción	108
B. Agente etiológico	109
1. Propiedades físicas y químicas	109
2. Sistemas de cultivo y huéspedes susceptibles	110
3. Multiplicación viral	110
4. Subtipos de virus	111
5. Serología	112
C. Patogenia	112
D. Diagnóstico	114
E. Vacunas	115
F. Ecología de la EEV	116
1. Artrópodos y otros medios de transmisión de la EEV	117
2. Mamíferos	120
3. Aves	122
G. Encefalitis Equina Venezolana en México antes de 1972	122
H. La situación de la EEV después del brote de 1969-1972	125
Referencias	140

A. INTRODUCCION

La Encefalitis Equina Venezolana (EEV) es una enfermedad que se presenta principalmente en seres humanos y equinos y se caracteriza por un cuadro febril que en ocasiones va seguido de uno neurológico y de la muerte. El agente etiológico es un virus, el cual fue reconocido por primera vez en Venezuela por Kubes y Ríos (111) por una parte, y por Beck y Wickoff (8) por otra en 1938.

La enfermedad se consideró propia del norte de Sudamérica y Panamá, hasta el año de 1962, en que se encontraron anticuerpos neutralizantes contra la EEV, en seres humanos de Champotón, Campeche, México (46,48). Posteriormente se ha reportado de la presencia del virus en otros países de América, donde ha provocado graves epizootemias siendo una de la más notables la ocurrida en los años de 1969 a 1972 en Norte, Centro y Sudamérica (181).

La enfermedad no afecta a otros animales domésticos en la misma forma que a los seres humanos y equinos; sin embargo, se ha sospechado que aquellos pueden intervenir en el ciclo ecológico (43). La transmisión del virus ocurre a través de mosquitos en los cuales el microorganismo es capaz de multiplicarse.

Se desconocen varios de los aspectos de la ecología de la EEV, sin embargo parece ser que existen dos ciclos en la naturaleza (199). Uno es el enzootómico el cual ocurre entre pequeños mamíferos y mosquitos, y ocasionalmente el hombre o equinos cuando éstos entran dentro del nicho del virus. El otro ciclo sería el epizootómico, en el cual existe una amplia difusión del virus en la naturaleza y se manifiesta con la aparición de brotes severos de la enfermedad tanto en la población humana como equina.

Para la prevención de la EEV en equinos existe una vacuna preparada a partir de una cepa del virus modificado en cultivos celulares (9). En el brote de 1969-1972 ocurrido en México, la vacuna demostró una alta eficacia para proteger a los equinos por lo que se considera que actualmente existe un excelente medio de prevención contra la enfermedad (142).

Por otra parte, los daños que ocasiona la EEV en el campo son variados. A los seres humanos los puede incapacitar temporalmente para el trabajo y en ocasiones causarles la muerte (84). En los equinos, la EEV también se presenta como una enfermedad incapacitante, sin embargo les provoca principalmente la muerte. Este último aspecto ha tenido repercusión en la economía de comunidades rurales, donde los elementos de trabajo y transporte son los equinos.

B. AGENTE ETIOLOGICO

El virus de la EEV ha sido incluido dentro del grupo A de los Arbovirus o Togavirus (10,195). Es un virus peligroso de trabajar en el laboratorio debido a la facilidad con que los seres humanos pueden contraer la infección. Para reducir el riesgo a un mínimo, se debe vacunar al personal, tomar las precauciones adecuadas y contar con buenas medidas de seguridad en las instalaciones.

1. Propiedades físicas y químicas

El virus posee una cápside de probable simetría de icosaedro rodeada de una membrana. Cuando se observa la superficie del virión con el microscopio electrónico, ésta presenta una apariencia difusa y de proyecciones muy finas (125).

El tamaño de los viriones ha sido estimado con el microscopio electrónico entre 65 y 75 nanómetros (127). Estructuralmente el virus está formado por un genoma de ácido ribonucleíco (ARN) de cadena sencilla. Además, posee 3 polipéptidos, uno con alto contenido en lisina, asociado con el ARN y otros dos, que son glicoproteínas (gp 50 y gp 56) y que junto con los lípidos estructurales forman la membrana viral. Los anticuerpos monoclonales contra gp 56 neutralizan al virus y son capaces de proteger a ratones contra un desafío con virus patógeno de EEV (118,125,134). Por otro lado, la hemaglutinina es un componente inmunogénico en la superficie del virión y probablemente corresponde a las proyecciones de glicoproteína (128,134). Por medio del análisis de las glicoproteínas de la cubierta del virus se puede determinar si la cepa fue de origen humano o equino (194). En lo que respecta a la relación de proteína: lípido: ARN ésta es de 70:24:6 (185).

El virus se inactiva con desoxicolato de sodio 1:1000 y con éter indicando que posee lípidos esenciales (178). También se inactiva parcialmente con formalina, es sensible al ácido y se inactiva rápidamente a 37 C (173).

2. Sistemas de cultivo y huéspedes susceptibles

El ratón lactante suizo blanco es bastante sensible a la infección cuando el virus se inocula por vía intracerebral, subcutánea o intraperitoneal. En estos animales se presenta una infección fatal en 24 a 48 horas. Por otra parte, el ratón de 3 semanas de edad es menos susceptible que el ratón lactante. El virus también es capaz de multiplicarse en gran variedad de animales tales como los cobayos, hámsters, ratas, pollos de un día de nacidos, monos *Macaca mulata*, perros y algunas aves (3,29,34,79,99,174).

Entre los cultivos celulares en los que el virus puede multiplicarse se encuentran las células de útero humano y canino, HeLa, renales de hámsters (BHK), hepáticas de Chang, L, conjuntivales, renales de mono, embrionarias de pollo, pulmonares de embrión de ratón, embrionarias de cobayo, Mahen, corazón de cobayo y de mosquitos *Aedes aegypti* (9,10,63,70,87,124). Además, se han logrado establecer infecciones persistentes del virus de la EEV en líneas celulares linfoblastoides humanas Raji y L-10 (130).

3. Multiplicación viral

El virión se adsorbe a la superficie celular y penetra al citoplasma por el proceso de viriopenesis. El ARN viral es liberado e induce la síntesis de proteína y ARN. En el citoplasma y ocasionalmente en el núcleo, se forman viroplastos en donde el

ARN y las proteínas forman los nucleoides. Estos generalmente se localizan alrededor de vacuolas citoplásmicas cerca de acumulaciones de polirribosomas y mitocondrias. Por medio de anticuerpos fluorescentes se ha podido demostrar la presencia de los antígenos virales en el citoplasma de las células de 4 a 5 horas después de la infección. La síntesis de glicoproteínas ocurre en el aparato de Golgi, y los nucleoides en el proceso de maduración toman parte de la membrana vacuolar o citoplásmica y posteriormente son liberados de la célula. El ciclo de multiplicación viral se desarrolla en aproximadamente 8 horas en células de embrión de pollo con una producción máxima de virus por célula de 1500 a 3000 unidades formadoras de placa (19,136).

4. Subtipos del virus

Por medio de la prueba cinética de la inhibición de la hemaglutinación, Young y Johnson (199,200) clasificaron al virus de la EEV en subtipos. Los subtipos I-A, I-B, y I-C se consideran epizootémicos. El I-A corresponde a la cepa de Beck y Wickoff y la de burro de Venezuela y Trinidad. En el subtipo I-B se encuentran cepas que ocurren en Perú, Ecuador y recientemente en Norte, Centro y Sudamérica, donde han provocado graves brotes de enfermedad. El subtipo IC existe en Venezuela y Colombia. Los subtipos I-D, I-E y I-F se consideran enzootémicos. El subtipo I-D se encuentra en Colombia y Panamá; el subtipo I-E en Centroamérica y México, y el I-F en Brasil (21). Por otra parte, el subtipo II se encuentra en Florida, Estados Unidos. El subtipo III, entre el que se encuentra la cepa Mucambo, se ha aislado en Brasil al igual que el subtipo IV o Pixuna (198). Se encontró el subtipo V y el subtipo VI se aisló en Argentina (22). Por medio de las técnicas de cromatografía en columnas de hidroxilapatita y análisis de oligonucleótidos, los subtipos de virus epizootémicos I-A, I-B y I-C son diferentes a los subtipos enzootémicos I-D y I-E y a los subtipos II, III y IV (97,182).

Con respecto a los caballos, Walton y Johnson (189,190) y Martin *et al.* (117) han señalado que sólo los subtipos I-A, I-B y I-C poseen el potencial para provocar epizootias debido a que son más patógenos y provocan encefalitis en la mayoría de los casos, en comparación con los subtipos I-D, I-E, II, III y IV, los cuales causan una leve viremia acompañada de fiebre y ocasionalmente encefalitis. Existe protección cruzada en animales inmunizados con los diferentes subtipos; sin embargo, se han reportado fallas en la inmunidad conferida por un virus contra otro, indicando que los subtipos son similares pero no idénticos (47,49,200).

5. Serología

Como respuesta a la infección, los seres humanos y animales producen en el suero anticuerpos neutralizantes (N), inhibidores de la hemaglutinación (IH) y fijadores del complemento (FC). Los anticuerpos N e IH se pueden demostrar aproximadamente 7 días después de la infección y pueden persistir por varios años siendo los N los que probablemente permanezcan en el suero por toda la vida del individuo. Por otro lado, los anticuerpos FC aparecen aproximadamente a los 21 días y desaparecen alrededor de un año (197).

La prueba de seroneutralización (SN) es bastante específica y se puede efectuar tanto en ratón lactante como en cultivos celulares. En estos últimos se toma en cuenta la inhibición del efecto citopatogénico y la neutralización o reducción de placas (86). También se ha adaptado la prueba de SN al sistema de microplaca lo que ha permitido trabajar un mayor número de sueros y en una forma más económica. Por otro lado, la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH) también es bastante sensible. Debido a la facilidad con que se puede efectuar y su economía, esta prueba es una de las más útiles en serología, sin embargo, pueden ocurrir reacciones cruzadas con otros virus del grupo A (23). La prueba de fijación del complemento (FC) es de valor limitado ya que se ha reportado que en ocasiones sólo un pequeño porcentaje de sueros con anticuerpos N e IH reaccionan en forma positiva, con títulos bajos a la prueba de FC. Sin embargo, la presencia de anticuerpos FC en el suero es evidencia de actividad viral reciente y este dato es de valor en las encuestas serológicas (23,68). También se pueden detectar anticuerpos contra el virus de la EEV por medio de radioinmunoensayo utilizando proteína A de estafilococo, con una sensibilidad igual o mayor a la de virus neutralización (98).

C. PATOGENIA

El virus de la EEV ataca a seres humanos de todas las edades, aunque se ha observado que en ocasiones los individuos menores de 15 años de edad han sido los más afectados. El período de incubación es aproximadamente de 1.5 a 3.5 días y la viremia ocurre durante los primeros 3 días de la enfermedad. El cuadro clínico semeja una infección de las vías respiratorias altas con fiebre de hasta 40.5 C, dolor tanto de cabeza como en la parte posterior de los ojos, catarro nasal, dolores musculares y en algunos casos vómito. Los síntomas duran de 3 a 6 días y posteriormente hay recuperación. Algunos pacientes muestran síntomas neurológicos tales como rigidez nuchal, convulsiones, nistagmus, desviación de los ojos y en ocasiones sobreviene la muerte (12,14,84,183). Debido a que el virus causa alteraciones en los fetos de mono Rhesus (*Macaca mulata*) se considera potencialmente teratógeno en humanos (113).

Los caballos, 24 horas después de la inoculación, presentan fiebre que puede permanecer hasta 7 días. También hay disminución del consumo de pastura y agua y en ocasiones depresión del sistema nervioso central (SNC). En la sangre hay leucopenia con reducción de neutrófilos y linfocitos, durante 3 a 5 días. No existen cambios aparentes en el número de monocitos, eosinófilos y basófilos. Al mismo tiempo ocurre un descenso del valor del hematocrito y del número de plaquetas. Por otra parte, en animales inoculados experimentalmente se ha observado que la viremia es alta y dura un promedio de 120 horas. El virus puede ser aislado de las secreciones nasales, oculares y de la boca, líquido cefalorraquídeo, de la orina y leche así como del feto, indicando que hay paso transplacentario. La recuperación de los caballos en ocasiones es lenta, o éstos pueden continuar con signos clínicos tales como depresión o excitabilidad, caminar en círculos, apoyar la cabeza en las paredes, pérdida del balance, movimientos masticatorios, flacidez de los labios, los ojos semicerrados, nistagmus o las orejas caídas (58,105,108).

En la necropsia de los animales hay congestión y equimosis de las membranas mucosas y superficies serosas. Ocasionalmente se presentan hemorragias en los ganglios linfáticos, palidez del hígado, el cual se rompe con facilidad; edema y congestión de las meninges así como palidez de la médula ósea.

Las lesiones microscópicas de los órganos son variables. En el SNC, las lesiones se encuentran generalizadas; éstas consisten en hiperemia e infiltración perivascular variable y áreas de necrosis licuefactiva; las alteraciones aparecen con más frecuencia en el área frontal de la corteza disminuyendo hacia la zona occipital. Las meninges presentan inflamación difusa con exudado celular compuesto principalmente de linfocitos. En la médula espinal hay gliosis focal o difusa con infiltración de neutrófilos e infiltración perivascular principalmente por linfocitos (121). En ratones inoculados con virus de la EEV ocurre inflamación y desmielinización de la sustancia blanca de la médula espinal que se han sugerido sean debido a la respuesta inmune del animal, más que a la citolisis por el virus (44). A los sistemas retículoendotelial y linfoide se les ha considerado como órganos blanco para la multiplicación del virus de la EEV (45,188); es por esto que hay disminución del tejido hematopoyético en la médula ósea y destrucción de linfocitos y macrófagos en el bazo y ganglios linfáticos, en los cuales pueden llegar a quedar sólo remanentes de folículos linfáticos. En el páncreas hay focos necróticos en las células de los acini lo que hace que hamsters inoculados con el virus (TC- 83) tengan alteraciones en los niveles de insulina (140). El hígado presenta degeneración albuminosa y ocasionalmente aparecen focos de tejido hematopoyético probablemente para compensar la actividad de la médula ósea. En los riñones hay necrosis de los tubos contorneados proximales y degeneración albuminosa (108). La muerte del animal parece ser causada por el efecto citocida

de la replicación del virus y no a un proceso inmunopatológico, pues la inmunosupresión de los animales por medio de irradiación con rayos X no evita que éstos mueran (90).

D. DIAGNÓSTICO

Debido a que existen otras enfermedades de los equinos que provocan signos de encefalitis, el diagnóstico clínico de la EEV tiene un valor relativo. Se sospecha de EEV cuando aparecen animales enfermos en zonas enzoóticas de clima tropical o subtropical, durante la estación lluviosa y coincidiendo con un aumento en la población de mosquitos (35,123).

El diagnóstico más adecuado es a través del aislamiento e identificación del virus (197). Este puede ser obtenido a partir de la sangre de animales durante el periodo virémico, así como del cerebro, bazo, hígado, pulmones, riñones, timo, adrenales, corazón, ganglios linfáticos y médula ósea de los animales muertos (175). La suspensión viral es inoculada por vía intracerebral y subcutánea en ratones de 1 a 4 días de edad y entre las 24 a 48 horas siguientes los animales presentan hiperexcitabilidad, arqueamiento seguido de depresión, parálisis y muerte. Entre otros animales utilizados para el aislamiento se encuentran las ratas, hamsters, cobayos y monos (8; 79,147). También se ha usado el embrión de pollo, el cual se inocula en el saco vitelino o membrana corioalantoidea. En este caso, el embrión muere generalmente entre 15 a 18 horas después de la inoculación (110). También se han usado mosquitos *Toxorhynchites amboinensis* para el aislamiento (154). El virus puede ser aislado en cultivos celulares de embrión de pollo en los cuales produce efecto citopático y placas cuando se cubren con medio con agar. Esta última prueba ha sido modificada adicionando al agar sueros hiperinmunes contra diferentes arbovirus. De esta forma ha sido posible aislar el virus e identificarlo al mismo tiempo (126).

Las pruebas serológicas utilizadas comúnmente para el diagnóstico de la EEV han sido la seroneutralización (SN), inhibición de la hemoaglutinación (IH) y la fijación del complemento (FC) (197). Los resultados obtenidos con cada una de estas pruebas son complementarios debido a que existen en los sueros de algunos animales sustancias que pueden inhibir la hemaglutinación inespecíficamente (34) o neutralizar al virus (151). Otras pruebas de laboratorio que se han utilizado en menor escala para demostrar la presencia de anticuerpos en un suero o de antígeno viral han sido la precipitación radial en agar, inmunoelectroforesis y precipitación en geles de agar (17,20,88). Por medio de anticuerpos fluorescentes el antígeno viral de la EEV se puede observar en el cerebro, hígado, páncreas y glándulas sublinguales de los equinos (132).

E. VACUNAS

Este tema ha sido cubierto ampliamente por Batalla (5) y sólo se tratará aquí en forma breve. La vacuna que actualmente (1990) se usa es preparada con virus atenuado cepa TC-83; esta cepa ha sido utilizada desde 1961 en seres humanos, principalmente para la protección del personal que trabaja en los laboratorios, y desde 1969 en las campañas de vacunación de equinos. La cepa TC-83 es un virus modificado en cultivos celulares a partir de la cepa epizoótica, por lo que en humanos induce anticuerpos neutralizantes que reconocen mejor a los subtipos I-A, I-B y I-C que a los enzoóticos, I-D, I-E, II, III y IV (18). El virus vacunal provoca una infección relativamente benigna en humanos ya que en ocasiones se ha reportado que después de la vacunación ocurren signos clínicos de malestar general, dolor de cabeza e incluso rigidez nuchal que después de algunos días desaparecen. Como correlación en humanos, se han inoculado intravenosamente monos rhesus (*Macaca mulata*) con la cepa TC-83 y se encontró que el virus fue eliminado rápidamente de la sangre en comparación con la cepa epizoótica de burro de Trinidad, la cual fue eliminada lentamente de la circulación. Quizá esta característica sea la responsable que la cepa TC-83 en monos y quizá en humanos, induzca un curso benigno de la infección (97,113).

En los equinos, la vacuna induce anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación, neutralizantes y fijadores del complemento y los animales se encuentran protegidos por lo menos dos años. Las yeguas transmiten la inmunidad a los potros a través del calostro, por lo que si se inmunizan animales de menos de 6 meses de edad, éstos deben ser reinmunizados 6 meses después (65). Es posible que los equinos que poseen anticuerpos contra EEE y EEO no respondan adecuadamente a la vacuna TC-83 y además, que tengan cierto grado de protección cuando se infectan con el virus patógeno de la EEV (64).

Debido a que la cepa TC-83 induce viremia y puede infectar mosquitos, como alternativa se ha elaborado una vacuna con virus inactivado con formaldehído. Esta vacuna induce protección parcial en hamsters en comparación con la cepa TC 83 (100); se ha obtenido buena protección en monos rhesus cuando la vacuna fue preparada con adyuvantes como el DEAE-dextrán o la mezcla de ácido ribosínico y poliribocitidílico (poli I-C) con poli-L-lisina y carboximetilcelulosa (93,94). También se puede incrementar la inmunogenicidad mezclando el virus vacunal con IgG específica y los complejos al ser inyectados a monos rhesus inducen una mayor respuesta inmune humoral en comparación con los inmunizados sólo con el virus (94).

La protección de los animales está basada en la presencia de anticuerpos aunque también intervienen los linfocitos T. Cobayos y ratones tratados con

ciclofosfamida antes de ser inmunizados con una vacuna inactivada de EEV, no formaron anticuerpos y al desafío tampoco estuvieron protegidos. Debido a que el tratamiento con ciclofosfamida dejó intacta la respuesta inmune celular, los resultados sugieren que la protección que indujo la vacuna inactivada fue debida a sólo anticuerpos (3). Por otro lado, en estudios de transferencia adoptiva efectuados en ratones, se demostró que fueron los linfocitos T los que transfirieron la inmunidad de un animal a otro (137,138).

F. ECOLOGIA DE LA EEV

La Encefalitis Equina Venezolana se encuentra distribuida en la parte norte, centro y sur del Continente Americano (Figura 1). Se ha presentado principalmente en áreas geográficas delimitadas de clima tropical; sin embargo, en ocasiones la enfermedad se ha difundido a través de zonas de gran extensión y climas variados. En los últimos años se ha determinado que el virus de la EEV tiene dos ciclos en la naturaleza, uno enzootómico y otro epizootómico. Esta clasificación es empírica y se ha basado en características del virus tales como severidad con que ataca a humanos y animales, difusión en la naturaleza y características antigénicas (198).

Con respecto a los focos enzootómicos, éstos se encuentran aislados geográficamente, cerca de las costas, a poca elevación sobre el nivel del mar, con clima tropical o subtropical y con lluvias durante una época definida o a través de todo el año. El virus ha sido aislado de zonas boscosas húmedas, que se encuentran cerca de pantanos o reservorios semipermanentes de agua. El tamaño de estos focos ha sido estimado en ser no mayor de media hectárea. Por otra parte, la actividad del virus es cíclica; y hay épocas en las que parece no existir. En este caso se ha sospechado que el microorganismo se mantiene en un ciclo de mosquito-roedor-mosquito. En ocasiones, cuando se incrementa la población de mosquitos, es posible encontrar anticuerpos contra la EEV en algunas especies de roedores silvestres indicando que el virus está circulando en dichos animales. El virus puede ser aislado de los focos enzoóticos por medio de hamsters o caballos centinelas, así como de mosquitos; éstos con cierta frecuencia pertenecen al género *Culex*, subgénero *Melanoconion* (81,101,102, 163,181,187).

Los cambios en las condiciones ecológicas de los focos enzootómicos permiten un incremento en la actividad viral. A veces, esto se traduce en brotes de la enfermedad ya sea en equinos o en seres humanos cercanos a la zona enzoótica. Los brotes generalmente coinciden con la presencia de gran cantidad de mosquitos que actúan como vectores y con un incremento en la población de

roedores los cuales pueden actuar como amplificadores del virus (123,181). Por otra parte, los estudios de Young (198) han indicado que existe estabilidad antigénica de los virus presentes en una zona geográfica sin importar el huésped o el año de aislamiento. Probablemente el virus está adaptado a pequeños nichos en la naturaleza sin tener necesidad de evolucionar. Se consideran como subtipos enzootómicos al I-D, I-E, II, III y IV (198,199).

Por lo que toca al virus epizootómico, éste tiene amplia difusión en la naturaleza y es capaz de provocar brotes en seres humanos y equinos de mayor magnitud que el enzootómico. La mayoría de los casos han ocurrido cerca de las costas, aunque se han presentado a diferentes alturas, llegando hasta los 2,350 metros sobre el nivel del mar (141). Los climas han sido variados y en algunos casos de baja precipitación pluvial.

Se ha sospechado que los seres humanos y equinos puedan servir como amplificadores del virus debido a que éste se encuentra en altas concentraciones en la sangre. Esto puede propiciar que además de los mosquitos, otros artrópodos hematófagos puedan infectarse y servir como vectores mecánicos del virus (123). Por otro lado, en las epizootemias el porcentaje de aves o pequeños mamíferos infectados con EEV es bajo. Esta observación podría sugerir que una de las fuentes más importantes del virus para los mosquitos lo constituyen los equinos (16,106).

Las epizootemias tienden a difundirse hacia zonas donde se encuentran animales susceptibles. Se ha observado que en algunas ocasiones los brotes paran sus movimientos en una región por varios meses, cuando las condiciones climáticas no son favorables y continúan tan pronto existen las condiciones adecuadas (106). No se ha podido determinar la forma como el virus es transportado grandes distancias. Tampoco se conoce cómo aparecen y desaparecen en la naturaleza las cepas epizootómicas; por ejemplo, el subtipo I-A después del aislamiento original no se ha podido volver a encontrar (199). Se ha especulado de que el virus epizootómico existe en un ciclo natural hasta ahora no reconocido o puede aparecer por selección de los virus enzootómicos (67). Scherer *et al.* (158) sugirieron que los brotes epizootómicos podrían detenerse al aparecer mosquitos que no permitieran una gran multiplicación del virus epizootómico, aunque los virus enzootómicos si podrían multiplicarse adecuadamente.

1. Artrópodos y otros medios de transmisión de la EEV

El virus se propaga en la naturaleza principalmente a través de mosquitos. Existen 12 géneros y 74 especies (Cuadro 1) que se han reportado ser susceptibles al virus de la EEV (71) y de éstos, es un número reducido de géneros los que son

capaces de transmitir el virus en ciclos enzootómicos. Por otro lado, en los epizootemias se ha aislado el virus de una gran variedad de géneros y especies. En este caso parece ser que casi cualquier especie de mosquitos puede infectarse y transmitir el virus debido a su amplia difusión; sin embargo, la mayoría de estos artrópodos quizá no intervienen dentro del ciclo de perpetuación del microorganismo en la naturaleza.

Los mosquitos que se han reportado como transmisores eficientes del virus enzootómicamente han sido *Culex (Melanoconion) aikenii* y *Culex (Melanoconion) portesi* (41,73). Galindo y Adams (74) estudiaron la ecología de *C. aikenii* en Panamá y reportaron que existe una relación directa entre la población de mosquitos y de la planta acuática *Pistia stratiotes*. En este caso, las hembras ponen los huevecillos sobre las hojas y los estadios inmaduros generalmente se encuentran asociados con la planta. Los mosquitos pueden ser transportados por fragmentos de la planta a través del agua, sirviendo de esta manera como medio de difusión hacia otras zonas. Por otro lado, las hembras se alimentan cerca del suelo, tanto en el atardecer como al amanecer, pican preferentemente a pequeños mamíferos y en ocasiones a las aves. Los seres humanos generalmente son picados en la parte baja de las piernas. En Trinidad el vector enzootómico del virus es *C. portesi*. Esta especie se reproduce en bosques húmedos que tienen tendencia a formar acúmulos de agua en el piso. Los mosquitos pican principalmente a roedores y en ocasiones a otros animales (41). En Guatemala se encontró que *Culex taeniopus* portaba el virus enzoótico de EEV. Debido a que esta especie se alimenta de grandes y pequeños mamíferos, así como de aves, se ha sospechado que sea muy importante como vector endémico del virus (39).

El periodo extrínseco de incubación es el tiempo requerido por el virus para completar su desarrollo dentro del mosquito. Comprende desde que el microorganismo es ingerido por el artrópodo y se multiplica, hasta que posteriormente es transmitido por picadura. A la temperatura de 26.7 C, el periodo extrínseco de incubación es no mayor de 12 días en los géneros *Mansonia* y *Aedes*. Sin embargo, este lapso puede variar en relación a la temperatura ambiente y a la especie de mosquito (28). El umbral de infección, o la concentración mínima del virus circulante en la sangre para que el mosquito pueda ser infectado, por lo general no debe ser menor de $10^{3.5}$ DL50/0.02 ml por vía intracerebral (ic) en ratón lactante (rl), aunque esta concentración puede ser mayor dependiendo del género y especie de mosquito (170). Por otra parte, la técnica de anticuerpos fluorescentes se ha utilizado para demostrar el virus de la EEV en las glándulas salivales del mosquito *Aedes aegypti* (69). Con esta prueba es posible reconocer el antígeno viral desde el segundo día del periodo extrínseco de incubación. La fluorescencia alcanza la máxima intensidad entre los 8 y 20

días y puede persistir por 25 días que ha sido el tiempo del periodo de observación. Mellink (120) determinó que mosquitos *Aedes aegypti* infectados con el virus de la EEV, en 14 segundos de alimentación pudieron transmitir una dosis infectante para el ratón.

Por lo que toca a la infección transovárica, ésta no se ha podido demostrar en *Mansonia indubitans* y *M. titillans* (108) aunque se ha encontrado virus a títulos mayores de 10^3 DL50/0.02 ml/ic/rl en huevecillos de *M. perturbans* (30). A este respecto, se ha reportado que otro arbovirus, el Lacrosse del grupo California, puede pasar del mosquito adulto a los huevecillos, estados larvarios y nuevamente a los adultos (192). De esta forma, el microorganismo podría sobrevivir a través del invierno y perpetuarse en la naturaleza. En el caso de la EEV no se ha demostrado que este mecanismo ocurra (158), sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que ésta sea la manera de cómo el virus sobrevive de un año al siguiente.

Otros artrópodos involucrados en la transmisión del virus son los simúlidos *Simulium mexicanum* y *S. metallicum* (144). En estos dípteros no se ha demostrado que el microorganismo se multiplique y ocurra una transmisión biológica (92). También se ha sospechado que las moscas hematófagas de los géneros *Tabanus*, *Chrysops* y *Stomoxys*, sean vectores mecánicos, principalmente en las epizootias en las que los equinos tienen elevadas concentraciones de virus en la sangre. En forma experimental, el triatómido *Rhodnius prolixus* al ser inoculado por vía abdominal con virus de la EEV, fue capaz de mantener el virus por 4 meses y pudo transmitirlo al alimentarse de animales dentro de las dos semanas después de la inoculación del virus, pero no a las cuatro semanas (104). En pollos inoculados experimentalmente con EEV, el triatómido no se infectó al ingerir la sangre con virus (59).

Otra forma de transmisión del virus es a través de la vía naso-oral. Zárate y Scherer (203) por una parte y Howard (95) por otra, demostraron que ratas cañeras *Sigmodon hispidus* inoculadas, desarrollaban viruria de una duración de 2 a 8 días después de la infección, y que el virus podía ser transmitido de una rata infectada a una sana sin que interviniera un artrópodo como vector. A este respecto, los estudios de transmisión por aerosol hechos en monos *Macacus rhesus*, cobayos y conejos, demostraron que es a través de la cavidad nasal la ruta por la cual el virus alcanza el cerebro, y que tanto el bulbo como el tracto olfatorio son muy susceptibles a la infección por el microorganismo (40). Probablemente ésta sea la vía de infección del personal de laboratorio ya que generalmente la transmisión ocurre a través de aerosoles (31,47).

2. Mamíferos

Es notable el elevado número de especies de mamíferos que son susceptibles al virus de la EEV (Cuadro 2). Sin embargo, se desconoce hasta la fecha el papel que desempeñan muchos de estos animales en el ciclo del microorganismo en la naturaleza.

Se ha sugerido que el virus se encuentra en forma enzootómica en roedores de vida subterránea. Entre estos mamíferos se hallan los géneros *Sigmodon*, *Heteromys* y *Zygodontomys* (101,102). Esto es debido a que el virus se ha aislado de estos animales con cierta frecuencia y que en un elevado número de sueros analizados se encuentran anticuerpos específicos. Además, la aparición de algunos brotes de la EEV en zonas geográficas limitadas, ha coincidido con un incremento de la población de roedores (32,72,101,103,150). Especialmente ha sido notable la presencia de la rata cañera *Sygmodon hispidus* (123, 181).

Debido al interés epizootiológico en la rata cañera *S. hispidus*, se han hecho varios estudios de laboratorio. Se ha reportado que la susceptibilidad al virus es muy variable, ya que las cepas enzoóticas no matan al 100 % de los animales. Esto podría sugerir que existe una resistencia natural en estos roedores (13,202). Por otro lado, las ratas infectadas naturalmente pueden alcanzar 4 a 5 DL50 ic/rl/ml de viremia con una duración alrededor de 5 días (101,201). Además de la transmisión del virus a través de mosquitos ésta también puede ocurrir por contacto directo incrementando las posibilidades de infección entre las ratas (95,203).

Por otra parte, el área en que viven las colonias de *S. hispidus* no es mayor de media hectárea. Los animales viven en pastizales cercanos a los linderos de los bosques, caminos, crecimientos secundarios de vegetación o campos de cultivo. Para comprender la amplificación del virus en la naturaleza se debe tomar en cuenta que en las zonas templadas probablemente viven de 10 a 20 o más ratas en media hectárea. Las hembras se reproducen alrededor de los 2 meses de edad y procrean aproximadamente 6 animales cada mes; esto transcurre en su vida que es de alrededor de 6 meses. Los animales son activos tanto en el día como en la noche, de esta forma son picados por los mosquitos con más frecuencia que las especies anteriormente mencionadas de ratas. Durante la época de lluvias ocurre un incremento de la población coincidiendo la presencia de animales jóvenes susceptibles con la época de abundancia de mosquitos (96,131).

En forma experimental se inocularon mamíferos silvestres de 10 especies con la cepa epizootica de EEV y se encontró, que los roedores fueron altamente susceptibles a la infección y tuvieron viremia de $10^{7.7}$ a $10^{11.5}$ DL50 ic/rl/ml por

2 a 4 días. La mortalidad fue elevada en todas las especies de roedores excepto *Sigmodon hispidus*, *Neotoma micropus* y *Peromyscus leucopus*. Los lagomorfos tuvieron títulos bajos y los mapaches y tlacuaches fueron relativamente resistentes a la infección. Los animales jóvenes fueron más susceptibles a la infección que los adultos (13).

Con respecto a la transmisión trasplacentaria del virus en los animales se ha reportado que ocurre. En ratonas de laboratorio gestantes, la infección con la cepa vacunal TC-83 provocó un incremento en el número de abortos y una disminución del tamaño de las camadas y de la viabilidad de los ratones recién nacidos (166).

En los humanos se ha encontrado necrosis cerebral masiva en fetos y niños recién nacidos en los cuales las madres sufrieron la EEV durante la gestación (193). En los equinos vacunados con la cepa TC-83 no se han observado ni el paso del virus a través de la placenta, ni efectos aparentes en la progenie (165).

El papel de los murciélagos en el ciclo de la EEV no es conocido. En encuestas serológicas, en ocasiones se han encontrado anticuerpos específicos en el suero de varias especies pero en otras no (36,57,160,161); el virus ha sido aislado del murciélago *Uroderma bilibatum* y de vampiros *Desmodus rotundus*, infectados naturalmente (37,85). En condiciones de laboratorio, *D. rotundus* y *Artibeus jamaicensis* inoculados, son capaces de excretar el virus por la saliva a partir del quinto día de la infección. El hallazgo sugiere que a través de la mordedura del murciélago vampiro podría ser otra forma de transmisión de la EEV a los animales domésticos (6,116,162). La inoculación experimental con virus de la EEV en murciélagos *Artibeus lituratus*, *A. jamaicensis*, *Phyllostomus discolor*, *Sturnira lilium* y *Carollia subrufa* indujo viremia en 92.5 % de los murciélagos pero no les provocó signos clínicos (161). Por otra parte, hay especies de murciélagos migratorios que podrían difundir el virus de una zona a otra (184).

Con respecto a los seres humanos y equinos, éstos han sido involucrados como amplificadores de la cepa epizootémica del virus (13,106). Esto es debido a los altos títulos de virus que se encuentran en la sangre y a la mayor superficie que presentan a los mosquitos. Por lo que toca a otros animales domésticos, se ha demostrado que los perros desarrollan una viremia capaz de infectar mosquitos y éstos a su vez a otros animales (43). Las cabras, cerdos, venados y bovinos pueden actuar como centinelas ya que el virus es capaz de replicarse en estos animales, en los que se produce una respuesta inmunitaria sin provocar signos clínicos de la enfermedad (25,55,62,75,91,116). Se ha sugerido que los equinos son los más importantes amplificadores del virus y los canideos; lagomorfos y roedores son de menor importancia (13).

3. Aves

Chamberlain *et al.* (29) inocularon aves silvestres con el virus de la EEV, las cuales tuvieron moderada viremia de una duración de 2 a 3 días, pero estos investigadores concluyeron que las aves no eran tan susceptibles a la infección como los mamíferos. A partir de ese trabajo se han efectuado aislamientos del virus y se han encontrado anticuerpos en los sueros de aves silvestres (Cuadro 3), lo que sugiere que estos animales intervienen de alguna manera en el ciclo natural de la EEV .

A este respecto, el virus de la EEV fue aislado de un gallo y un pollo naturalmente infectados en Venezuela (15). También se ha aislado del *Butorides virescens maculatus* infectado naturalmente. Grayson y Galindo (81) han indicado que esta ave pertenece a la familia del *Butorides virescens virescens* el cual emigra en el invierno desde el sur de Canadá, pasa por el este de los Estados Unidos y México y llega hasta Panamá y Colombia (42). De esta manera a través de aves migratorias sería posible que el virus se difundiera en el continente americano.

Dickerman (51) y Young y Johnson (199) han señalado que los diferentes subtipos del virus de la EEV están en áreas geográficas delimitadas y no pasan de una zona a otra con facilidad. Por otro lado, los estudios hechos en una área enzoótica de México, demostraron que las aves migratorias que llegan a la zona no habían estado expuestas al virus, sin embargo, en los sueros de las aves residentes sí se encontraron anticuerpos específicos (54). Estas observaciones han sugerido que quizá, las aves migratorias no tengan un papel activo en la difusión del virus, entre las diferentes áreas enzoóticas.

En condiciones de laboratorio, los pollos menores de un mes al ser inoculados con el virus de la EEV presentan parálisis y muerte; las aves adultas no tienen signos clínicos, aunque desarrollan anticuerpos específicos (15). Por otro lado, la calandria (*Icterus chrysater*) y la garcita (*Butorides striatus*) al ser inoculadas desarrollaron viremia con títulos altos capaces de infectar mosquitos (56).

G. LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN MEXICO ANTES DE 1972

En México se conoce la presencia del virus de la EEV desde 1962 (Figura 2) en que se encontraron anticuerpos IH en sueros de individuos de Champotón, Campeche (46,48). El virus fue aislado por primera vez en 1963 a partir de hamsters y ratones lactantes usados como centinelas y de mosquitos del género *Culex*, en Sontecomapan, Veracruz (147). Estudios posteriores efectuados en esa zona, indicaron que cuando se introducían caballos y burros susceptibles, éstos

se infectaban de EEV desarrollando una enfermedad febril leve y la subsecuente aparición de anticuerpos específicos. Los virus aislados fueron clasificados como enzoóticos del subtipo I-E (76).

En el año de 1965 murió un individuo en Jaltipan, Veracruz, probablemente debido a EEV (204). En 1966 se presentó una epizootia de EEV en las cercanías de Tampico, Tamaulipas, en la que enfermaron aproximadamente 1000 equinos y murieron 300. La enfermedad coincidió con las fuertes lluvias de la época y con la presencia de una gran cantidad de mosquitos y ratas cañeras del género *Sigmodon hispidus*. Un alto porcentaje de sueros de estos roedores tuvieron anticuerpos IH, sugiriendo que el virus circulaba en esos animales. La procedencia del microorganismo en esa epizootia no se determinó ya que pudo haber sido introducida por animales migratorios u otra forma, o ya existía en esa región en forma enzootómica. A este respecto, los lugareños informaron que en los últimos 20 años habían observado ocasionalmente caballos que morían con signos clínicos de encefalitis compatibles con los de la EEV. Esta observación pudiera indicar que el virus estaba en forma enzootómica, sin embargo, necesita corroboración (123).

En el verano de 1969 apareció la EEV en animales que se encontraban en la frontera entre Guatemala y El Salvador (Figura 3). En esa ocasión, el virus fue clasificado como subtipo I-B y guardaba estrecha relación antigénica con las cepas aisladas en Ecuador ese mismo año. No se sabe si el virus pasó de alguna manera, hasta ahora desconocida, del Ecuador a Guatemala o si este subtipo apareció como una modificación de los que ya existían en esa zona, que eran del subtipo I-E (148).

En la República Mexicana se recibieron noticias de una enfermedad en equinos cerca de Tapachula, Chiapas, en julio de 1969. Los animales presentaron un cuadro clínico compatible con encefalitis, sin embargo, no se hizo el diagnóstico de laboratorio (33). Oficialmente la enfermedad se presentó por primera vez en el municipio de Chicomusuelo, Chiapas, y a partir de este brote el virus continuó hacia el norte de México. El subtipo del virus correspondió al I-B o epizootómico (37). En el Cuadro 4 se presenta el orden cronológico en que aparecieron los brotes en la República Mexicana según Reta (141), Correa (35), Reta y Sanz (142), y Borunda *et al.* (11).

Entre las características que tuvo la epizootemia se encuentran el que se difundió a través de regiones geográficas de diferentes climas y alturas sobre el nivel del mar. Fue notable el que la enfermedad se presentara en animales de Fresnillo, Zacatecas, a una altura sobre el nivel del mar de 2,350 metros. También tuvo un movimiento anual, deteniéndose en ocasiones con la estación fría. Al año

siguiente, cuando las condiciones ecológicas fueron adecuadas, la enfermedad apareció nuevamente en áreas cercanas a donde se había detenido, para después continuar. Este comportamiento del virus fue similar al ocurrido en Venezuela en años anteriores (66). El movimiento del brote fue siempre avanzando hacia seres humanos y equinos susceptibles los que probablemente actuaron como amplificadores, permitiendo la transmisión del virus a través de los mosquitos de la localidad.

Una vez presentada la enfermedad en una zona, ésta no volvía a aparecer. Seguramente el paso de la EEV proporcionaba una inmunidad sólida a los seres humanos, equinos y animales silvestres que sobrevivían a la infección. Por otra parte, la presencia de barreras inmunitarias debido a cepas enzoóticas, puede ser la explicación de que en ciertas regiones geográficas no se presentaron brotes. Esto fue aparente en el caso del estado de Tabasco en el cual un alto porcentaje de sueros de caballos antes de la vacunación tenían anticuerpos IH (Batalla-Campero, D. comunicación personal). Por lo que toca a los cordones de vacunación, éstos no impidieron que la enfermedad se diseminara; quizá fue debido a la amplia difusión del virus en la naturaleza y a la gran cantidad de seres humanos y animales susceptibles.

Los brotes tuvieron un carácter explosivo durante 1970, 1971 y 1972, sin embargo, tuvieron una secuencia cronológica de aparición. En el Cuadro 4 y en la Figura 3 se presentan las fechas en que apareció la enfermedad y su relación con algunas de las principales cuencas de ríos de la República Mexicana. Parece ser que muchos de los brotes ocurrieron ya sea dentro del área de la cuenca de un río o relativamente cerca a ésta. En algunas ocasiones fue posible seguir cronológicamente las fechas de los brotes sobre el curso del río. El movimiento del virus fue de las montañas hacia la costa (río abajo) o viceversa (río arriba). En algunos casos, los brotes aparecieron en diferentes años en los distintos afluentes de una misma cuenca.

La hipótesis de que el virus se difundió a través de las cuencas de los ríos tiene el atractivo que daría respuesta a que la enfermedad se presentó en toda época. Sin embargo, no todos los brotes ocurrieron en la cercanía de los ríos. Además, en muchos de los lugares donde se presentó la EEV, la única vía de comunicación era a través del ferrocarril, automóviles, camiones o el avión. A este respecto, se ha sospechado que los vehículos pueden transportar mosquitos o animales infectados de una área a otra, pero no existe prueba de que así haya ocurrido. El único caso notable fue el del brote ocurrido en las Islas Marías, Nayarit. En esa ocasión, los equinos que enfermaron se encontraban en los alrededores del aeropuerto sugiriendo que el avión fue capaz de transportar mosquitos infectados (Schroeder, V., comunicación personal).

Por otra parte, el virus fue capaz de ser transportado a través de las costas de una manera hasta ahora desconocida. Probablemente las aves migratorias tuvieron un papel importante, sin embargo no existe evidencia.

H. LA SITUACION DE LA EEV DESPUES DEL BROTE DE 1969-1972

Poco después de que la epizootemia había pasado, en los estados de Durango, Chihuahua y Tamaulipas, en junio y julio de 1972, Sudia *et al* (171) realizaron estudios sobre el virus. Se efectuaron 2 aislamientos de la variante epizootémica del virus (I-B) de la EEV a partir de mosquitos *Anopheles p. pseudopunctipennis* y de un equino que presentaba signos clínicos. En esa época hubo escasa actividad viral. Probablemente el virus haya permanecido en un ciclo continuo de transmisión de mosquitos infectados por periodos largos.

Para determinar el estado de inmunidad de equinos que habían sido vacunados contra EEV y que se encontraban en Arizona y Nuevo México en los Estados Unidos, en la zona colindante con México, Moore *et al.* (122) en 1972 hicieron una encuesta serológica, y encontraron que de 423 equinos que habían sido vacunados sólo 226 (53 %) tuvieron anticuerpos y el resto no. Debido a que 82 % de los animales que habían sido vacunados con EEV también tuvieron anticuerpos contra EEE y EEO se sugirió que quizá estos anticuerpos hayan bloqueado parcialmente la respuesta inmune hacia la vacuna de EEV y por eso, muchos equinos no respondieron contra el virus vacunal de la EEV. Con relación a los humanos, en 1971, Bowen y Calisher (14) determinaron una prevalencia de 3.2 % de individuos con anticuerpos IH en el sur de Texas, Estados Unidos.

Goldsmith *et al.* (80) hicieron un muestreo serológico en humanos de la costa del Pacífico en el estado de Oaxaca, México y encontraron que 4.9 % de 610 sueros fueron positivos por IH y neutralización al virus de la EEV. Este resultado indicó que el virus se encontraba endémicamente en el área.

Con objeto de determinar la presencia del virus en la naturaleza se han efectuado encuestas serológica en animales doméstico diferentes a los equinos, ya que estos se encuentran vacunados. De esta manera, Gallo *et al.* (75) en 1975 muestrearon bovinos de la zona de Huixtla, Chiapas y encontraron que de 78 bovinos, 70 % tenían anticuerpos IH contra el virus enzoótico (cepa 63U2) y 44 % contra la cepa TC-83. Estos resultados sugirieron que es probable que sea una cepa enzoótica de esa zona la causante de la conversión serológica y no la cepa vacunal TC-83. A este respecto, se ha sospechado que los anticuerpos en el suero de los animales domésticos podrían ser debido a la infección por virus TC-83, que provendría de la vacunación masiva de los equinos durante las campañas

(55,75,129). Esto podría ser posible ya que se ha demostrado que el virus vacunal se multiplica en mosquitos (7,145,146), y además, en una ocasión se logró aislar el virus vacunal de mosquitos *Psorophora confinnis* en condiciones de campo en zonas donde se había vacunado doce días antes (133). Sin embargo, otros estudios han indicado que la transmisión del virus vacunal en la naturaleza no ocurre (119,177,191); Sudia *et al.* (170) apoyan esta hipótesis al informar que no pudieron infectar mosquitos a partir de caballos inoculados con la cepa vacunal TC-83.

De 1969 a 1971, Scherer *et al.* (152) estuvieron buscando la cepa epizootica de la EEV en habitats que se consideraban enzoóticos en Guatemala; de las cepas aisladas sólo una tuvo características de epizootica y en los dos años del estudio esta cepa no se transformó en la dominante en el foco enzoótico. De 1970 a 1975, Scherer *et al.* (153) no encontraron evidencia que el virus epizootico estuviera circulando en Guatemala y El Salvador. La única actividad epizootica de virus de la EEV en Centroamérica fue en junio de 1972 en Nicaragua, cuando cientos de caballos murieron durante un brote de la enfermedad. No se pudo determinar si la presencia del virus en la zona fue debida a reactivación de la cepa o a la introducción del virus a la zona.

En Guatemala, Scherer *et al.* (155,156) encontraron que *Culex (Melanoconion) taenipus* era un vector importante de EEV y que con el tiempo hubo una modificación en la susceptibilidad de este mosquito hacia el virus epizootico. Determinaron que, el virus enzoótico era más infeccioso para los mosquitos que el epizootico, pues éstos podían infectarse de vertebrados que tenían una viremia de 1,000 a 5,000 ufp/ml de sangre, que era muy baja; estos investigadores sugirieron que probablemente esta modificación en la susceptibilidad de los mosquitos hacia el virus hizo que desaparecieran los focos epizooticos que provocaban brotes en los caballos de esa zona, después de la epizootemia de 1969.

Scherer *et al.* (157) estudiaron de 1968 a 1980 dos focos enzoóticos de EEV en las tierras bajas del Pacífico y el Caribe de Guatemala. Por medio de hamsters centinelas aislaron el virus de la EEV cada año y correspondió a cepas enzoóticas, además, de los mamíferos terrestres muestreados, 26 de 28 tuvieron títulos de anticuerpos mayores a cepas enzoóticas que a epizooticas y en el 37 % de los sueros de 109 personas, se encontraron anticuerpos contra EEV, los cuales en el 65 % correspondieron a cepas enzoóticas.

Para prevenir la EEV en el México, se ha mantenido una campaña anual de vacunación de los equinos; ésta ha dado buenos resultados ya que desde octubre de 1972 no se ha presentado una epizootemia de la magnitud de la de 1969 a

1972, sin embargo, ha habido reportes aislados de probable actividad viral. A finales de 1974 y principios de 1975, se presentó un brote de probable EEV en Guatemala, en una zona relativamente cercana a la frontera con México, y a principios de 1980 murieron equinos en Quintana Roo en la zona colindante con Belize también de probable encefalitis. Estos reportes son una indicación de que la actividad viral continúa, y es posible que en un futuro puedan ocurrir brotes epizooticos de EEV cuando se den las condiciones adecuadas; éstas han sido desastres naturales, como las inundaciones que alteren la ecología de zonas amplias del país. Además, son una advertencia de la necesidad de continuar con la vacunación y con una vigilancia estrecha para prevenir la EEV en la República Mexicana.

CUADRO 1. ESPECIES DE MOSQUITOS Y SIMULIDOS SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (*)

ESPECIES DE MOSQUITOS

Aedes aegypti (a) (143)
Aedes albopictus (143)
Aedes angustivittatus (a) (81,144)
Aedes atlanticus (32)
Aedes canadensis (109)
Aedes geniculatus (143)
Aedes mediovittatus (176)
Aedes scapularis (a) (159)
Aedes serratus (a) (b) (24,51,159)
Aedes sexlineatus (a) (144)
Aedes sollicitans (a) (168)
Aedes taeniorhynchus (a)(b) (61,159)
Aedes thelcter (a) (168)
Aedes triseriatus (a) (30,108)
Anopheles aquasalis (159)
Anopheles crucians (a) (32,169)
Anopheles freeborni (a) (109)
Anopheles neomaculipalpus (a) (77)
Anopheles nimbus (27)
Anopheles punctimacula (a) (144)
Anopheles p. pseudopunctipennis (a) (168)
Anopheles quadrimaculatus (a) (167)
Anopheles stephensi (176)
Anopheles triannulatus (167)
Coquillettidia albicosta (b) (1)
Coquillettidia fasciolata (a) (149)
Coquillettidia perturbans (a) (30)
Coquillettidia venezuelensis (b) (1)
Culex (E.) *accelerans* (b) (2)
Culex (M.) *aikenii* (b) 73
Culex (M.) *albinensis* (b) (1)
Culex (E.) *amazonensis* (b) (2)
Culex (M.) complejo B-19 (b) (1)
Culex (C.) *corniger* (a) (144,149)
Culex(C.) *coronator* (a) (144,149)
Culex(M.) *crybda* (b) (1)
Culex (M.) *dunni* (a) (71)
Culex (M.) *erraticus* (a) (176)
Culex (M.) *iolambdis* (a) (149)
Culex (C.) *nigripalpus* (a) (b) (2)
Culex (M.) *opisthopus* (a) (73,149)
Culex (M.) *pracrybda* (167)
Culex (M.) *portesi* (b) (2,102)

Culex (C.) *quinquefasciatus* (a) (61,72)
Culex (C.) *salinarius* (a) (168)
Culex (M.) *spissipes* (a)(b) (1,167)
Culex (M.) T-11 (b) (1)
Culex (M.) T-13 (b) (1)
Culex (M.) T-17 (b) (1)
Culex (M.) *taeniopus* (b) (72)
Culex (C.) *tarsalis* (a) (109,167)
Culex (C.) *thriambus* (a) (149)
Culex (M.) *vomerifer* (b) (72)
Culex (M.) *ybarmis* (b) (2)
Culiseta inornata (a) (26)
Deinocerites pseudes (a) (149)
Haemagogus mesodentatus (a) (149)
Haemagogus spegazinii (b) (1)
Limatus durhami (a)(b) (1)
Limatus flavisetosus (b) (102)
Mansonia indubitans (a) (108)
Mansonia titillans (a)(b) (77,108)
Psorophora ciliata (a) (50)
Psorophora cilipes (a) (2)
Psorophora confinnis (a) (159)
Psorophora cyanescens (a) (50)
Psorophora discolor (a) (50)
Psorophora ferox (a) (30)
Psorophora lutzi (a) (149)
Sabethini (a)(b) (24,176)
Wyeomyia abebela (a) (149)
Wyeomyia medioalbipes (a)(b) (1,149)
Wyeomyia mitchelli (a) (149)
Wyeomyia occulta (b) (1)

ESPECIES DE SIMULIDOS

Simulium callidum (a) (144)
Simulium exiguum (144)
Simulium metallicum (a) (144)
Simulium mexicanum (a) (144)
Simulium paynei (a) (144)

a) Se encuentra en México; b) Se ha aislado virus Mucambo y Pixuna;

* Tomado del cuadro preparado por el Dr. C.R. Bautista Grafias, Programa de Encefalitis Equina, INIP, México.

CUADRO 2. MAMIFEROS SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Aotus trivirgatus</i>	Monos de la noche		+		82
<i>Artibeus lituratus</i> (b)	Murciélago zapotero grande	+	+		81,44
<i>Artibeus turpis</i> (b)	Murciélago frutero	+	+		150,198
<i>Bos taurus</i> (b)	Ganado bovino		+		75,159
<i>Bassaricyon gabbi</i>	Olingo			+	167
<i>Bradypus griseus</i>	Perezoso			+	167
<i>Caluromys derbianus</i>	Tiacuache lanoso	+			144
<i>Canis familiaris</i> (b)	Perro, chucho		+	+	159,174
<i>Canis latrans</i> (b)	Coyote			+	115
<i>Capra sp</i> (b)	Cabra, chivo		+		159
<i>Carollia perspicillata</i> (b)	Murciélago carolia	+			135
<i>Carollia subrufa</i> (b)	Murciélago carolia	+	+		150
<i>Cavia cobaya</i>	Cuyo, conejillo de indias			+	8
<i>Cebus apella</i>	Mono capuchino	+		+	24
<i>Choloepus hoffmanni</i>	Perezoso, Unai		+		82
<i>Citellus leucurus</i>	Ardilla de tierra		+		179
<i>Corynorhinus rafinesquii</i> (b)	Murciélago orejas de mula			+	38
<i>Cricetus auratus</i>	Hámster	+(e)			147
<i>Cuniculus paca</i>	Paca, conejo pintado, tepezcutile		+		82
<i>Cyclopes didactylus</i> (b)	Tamandúa o mico de noche, hormiguero sedoso		+		82
<i>Dasyprocta punctatus</i> (b)	Agutías, cusutiza, cutias			+	32
<i>Desmodus rotundus</i> (b)	Murciélago vampiro	+			6,37,85
<i>Didelphis sp.</i> (b)	Tiacuache, zorra de monte	+	+		81,144,150,159
<i>Dipodomys microps</i> (b)	Rata canguro		+		179
<i>Eptesicus fuscus</i> (b)	Murciélago moreno			+	38
<i>Equus sp.</i> (b)	Mula	+			112,139
<i>Equus asinus</i> (b)	Burro, esno	+	+	+	4,77,79
<i>Equus caballus</i> (b)	Caballo	+	+	+	111
<i>Glossophaga soricina</i> (b)	Murciélago siricotero	+	+		150
<i>Heteromys anomalus</i>	Retón de abezones	+(c)			60

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Virus Mucambo

(d) Virus Pixuna

(e) Animal centinela

CUADRO 2. MAMIFEROS SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Hoplomys gymnurus</i>	Rata espinosa o de setas		+		81,82
<i>Lepus californicus</i> (b)	Liebre cola negra		+		179
<i>Mecaca mulata</i>	Mono Rhesus			+	89
<i>Marmosa mitis</i> (b)	Tlacustzines, Ratón tlacuache	+(c)			82
<i>Metachirus nudicaudatus</i>	Cuicas, Xixixa	+(c)			176
<i>Metachirops opossum</i>	Cuica, opossum cola de rata	+			167
<i>Mus musculus</i>	Ratón de casa	+(e)		+	79,89,147
<i>Mustela frenata</i> (b)	Comadreja		+		81,150
<i>Myotis lucifugus</i> (b)	Murciélago moreno			+	38
<i>Nasua nasua</i>	Coatí, tejón			+	167
<i>Nectomys squamipes</i>	Rata nadadora, quieras		+		103
<i>Oecomys bicolor</i>		+			167
<i>Oryctolagus cuniculus</i> (b)	Conejo doméstico			+	89
<i>Oryzomys caliginosus</i>	Rata arrocera		+		81,82
<i>Oryzomys capito</i>	Rata arrocera	+			163
<i>Oryzomys concolor</i>	Rata arrocera		+		103
<i>Oryzomys goeldi</i>	Rata arrocera	+(c)			176
<i>Oryzomys laticeps</i>	Rata arrocera	+(c)			60
<i>Oryzomys palustris</i> (b)	Rata arrocera		+		81
<i>Ovis sp.</i> (b)	Borrugo, carnero		+		159
<i>Peromyscus gossypinus</i>	Ratón de campo		+		31
<i>Peromyscus maniculatus</i>	Ratón patas blancas, ratón cuatralbo		+		180
<i>Peromyscus mexicanus</i> (b)	Ratón de campo		+		150
<i>Phliander opossum</i> (b)	Tlacuache cuatro ojos	+(c)			81,150
<i>Pipistrellus subflavus</i> (b)	Murciélago de orejas largas			+	38
<i>Potos flavus</i> (b)	Mico de noche o Martucha micoleón			+	164,167
<i>Proechimys guyannensis</i>	Rata espinosa	+(d)			176
<i>Proechimys semiapinosus</i>	Rata espinosa	+	+		24,81
<i>Procyon lotor</i> (b)	Mapache, oso lavador		+		150
<i>Rattus norvegicus</i> (b)	Rata doméstica		+	+	24,144
<i>Rattus rattus</i> (b)	Rata doméstica negra		+		81,103
<i>Reithrodontomys megalotis</i>	Ratón de campo		+		180
<i>Saguinus geoffroyi</i>	Titis bigotudos		+		82

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Virus Mucambo

(d) Virus Picuna

(e) Animal centinela

CUADRO 2. MAMIFEROS SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Sciurus granatensis</i>	Ardilla arbórea		+		81
<i>Sciurus variegatoides</i> (b)	Ardilla arbórea		+		81
<i>Sigmodon hispidus</i> (b)	Rata cañera o algodонера		+		31,123,150
<i>Sus scrofa</i> (b)	Cerdo, puerco, chancho, cochino		+		159
<i>Sylvilagus audubonii</i> (b)	Conejo del desierto		+		179
<i>Sylvilagus brasiliensis</i> (b)	Conejo castellano		+		150
<i>Sylvilagus nuttallii</i> (b)	Conejo de campo de los Estados Unidos		+		179
<i>Tayassu tajacu</i> (b)	Puerco de monte, jabalí de collar			+	167
<i>Vulpes macrotis</i> (b)	Zorra nortea			+	179
<i>Zygodontomys brevicauda</i>	Ratón cañero cola corta	+	+		60,103

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Virus Mucambo

(d) Virus Pixuna

(e) Animal centinela

CUADRO 3. AVES Y REPTILES SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

AVES SUSCEPTIBLES Género y especie	Nombre común	Tipo estudio (a)			Ref
		A	S	EL	
<i>Arremon taciturnus</i>	Gorrión		+	(c)	114
<i>Bucco capensis</i>	Buco, musíu		+	(c)	114
<i>Butorides striatus</i>	Garcita, chicuaco			+	167
<i>Butorides virescens</i> (b)	Garcita verduzca	+			72,81
<i>Campephilus (Phloeocastus) rubicollis</i>	Carpintero pescuecirrojo		+	(c)	114
<i>Cardinalis (Richmondia) cardinalis</i> (b)	Cardenal común		+	+	107
<i>Ceryle megaceryle alcyon</i> (b)	Pescador norteño o migratorio		+		107
<i>Chloroceryle inda</i>	Pescador selvático		+	(c)	114
<i>Cochlearius cochlearius</i> (b)	Macaco del norte		+		54
<i>Columbia livia</i> (b)	Pichón doméstico			+	29
<i>Coragyps atratus</i> (b)	Zopilote común		+		81
<i>Corvus brachyrhynchos</i> (b)	Cuervo norteño		+		107
<i>Crotophaga sulcirostris</i> (b)	Garrapatero, ticús	+			72
<i>Crypturellus soui</i> (b)	Perdiz chica		+	(c)	114
<i>Crypturellus strigulosus</i>	Perdiz		+	(c)	114
<i>Cyanocitta cristata</i>	Chara norteamericana		+		107
<i>Dendroica coronata</i> (b)	Gusanero, rabadilla americana		+		107

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

CUADRO 3. AVES Y REPTILES SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Ref
		A	S	EL	
<i>Dumetella carolinensis</i>	Pájaro gato del norte		+		81
<i>Egretta alba</i> (b)	Garzón blanco		+		54
<i>Eudocimos albus (Guara alba)</i> (b)	Ibis blanca	+	+		72,107
<i>Florida caerulea</i> (b)	Garza chica parda	+			72
<i>Formicarius colma</i>	Hormiguero capirrojo		+(c)		114
<i>Gallus gallus</i> (b)	Gallina doméstica	+	+	+	167
<i>Hirundo rustica erytrogaster</i>	Golondrina tijerilla	+			85
<i>Icterus chrysater</i> (b)	Calandria de Giraud		+		167
<i>Icterus prosthemelas</i> (b)	Calandria de Strickland	+			72
<i>Jacana jacana</i>	Gallito de laguna		+		144
<i>Leptotila plumbeiceps</i> (b)	Paloma suelera de cabeza gris		+		144
<i>Malocoptila rufa</i>	Bolio de bigote		+(c)		114
<i>Manacus manacus</i>	Turquito, toledo		+		83
<i>Melospiza melodia</i> (b)	Gorrión cantor			+	29
<i>Myiozetetes granadensis</i>	Mosquero sudamericano	+			72
<i>Myiozetetes similis</i> (b)	Mosquero social o luisito	+			72

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

CUADRO 3. AVES Y REPTILES SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Ref
		A	S	EL	
<i>Nyctanassa violacea</i> (b)	Garsa nocturna tropical		+		107
<i>Nycticorax nycticorax</i> (b)	Pedrete gris, perro de agua		+		54
<i>Oreoscoptes montanus</i> (b)	Cuitlacoche menor		+		180
<i>Otus sp</i> (b)	Tecolotito		+		144
<i>Passer domesticus</i> (b)	Gorrión inglés			+	29
<i>Phaethornis superciliosus</i> (b)	Ermitaño grande	+			54
<i>Phlegopsis nigromaculata</i>			+ (c)		114
<i>Pipra erythrocephala</i>	Manaquín de cabeza dorada	+	+		83,167
<i>Pteroglossus torquatus</i> (b)	Tucán		+		81
<i>Pyriglena leucoptera</i>			+ (c)		114
<i>Quiscalus quiscula</i>	Zanate norteamericano		+		107
<i>Ramphastos sulfuratus</i> (b)	Tucán de cuello amarillo	+			72
<i>Ramphastos swainsonii</i>	Tucán de Swainson		+		81
<i>Ramphocelus passerinii</i>	Calandria de rabadilla escarlata	+			72
<i>Saltator maximus</i> (b)	Picogordo brincón		+ (c)		114
<i>Selenidera maculirostris</i>	Tucancito		+ (c)		114
<i>Sporophila nigricollis</i>			+		144

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

CUADRO 3. AVES Y REPTILES SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Ref
		A	S	EL	
<i>Turdus fumigatus</i>	Primavera o mirlo		+	(c)	114
<i>Turdus grayi</i> (b)	Primavera tropical o café	+			72
<i>Volatinia jacarina</i> (b)	Marinerito, loquito		+		54
<i>Xiphorhynchus flavigaster</i> (b)	Trepatroncos arañero fiador		+		54
<i>Xiphorhynchus guttatus</i>			+	(c)	114
<i>Xiphorhynchus lachrymosus</i>			+		83
<i>Zenaidura macroura</i> (b)	Huilota coluda, tórtola coluda			+	29
<i>Zonotrichia albicollis</i> (b)	Gorrión de garganta blanca			+	29
REPTILES SUSCEPTIBLES					
<i>Caiman fuscus</i> (b)	Caimán		+		81
<i>Iguana iguana</i> (b)	Iguana		+		81

(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

CUADRO 4. CRONOLOGÍA DE LOS BROTES DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LA REPÚBLICA MEXICANA, 1969-1972 (11,35,141,142)

Año	Fecha	Lugar	Estado
1969-1970	agosto-febrero	Municipio de Chicomuselo, La Concordia, Sochoatenango, Frontera Comalapa y Trinitaria. Tuxtla Gutiérrez, Ocozucuatla, márgenes del Río Grijalva y Cintalapa.	Chiapas
1970	Marzo	Poblados en la carretera hacia el Itamo de Tehuantepec.	Oaxaca
	Abril-Mayo	No hubo casos	
	Junio	Cuenca del Río Grijalva	Chiapas
	Agosto	Tepanatepec, Chahuites, San Mateo del Mar, Zanatepec, Reforma, Ixhuatán, Nilitpec, Juchitán y Costa de Oaxaca	Oaxaca
	Mediados de Septiembre	San Andrés Tuxtla	Veracruz
	Octubre	Oeste de la costa de Oaxaca	Oaxaca
	15 de Octubre	Acapulco y alrededores de la laguna de Tres Palos	Guerrero
	21 de Octubre	Medellín, Actopan	Veracruz
1970	Diciembre	Desembocadura del Río Balsas, Melchor Ocampo	Guerrero y Michoacán
1971	10 de Enero	Espinal	Veracruz
	15 de Marzo	Ixhuatlán de Madero	Veracruz
	Principios de Mayo	Las Tablas, Río Verde	San Luis Potosí
	5 de Junio	Tuxpan y alrededores de la Laguna de Tamiahua	Veracruz
	8 de Junio	Soto La Marina	Tamaulipas
	16 de Junio	El Progreso y San Antonio, Municipio de Candela	Cochula
	Mediados de Junio	Frontera con México	Texas, Estados Unidos
	23 de Junio	Condado de Live Oak	Texas, Estados Unidos
	Finales de Junio	Oeste del Estado	Nuevo León
	10 de Julio	Jalpan	Querétaro
	23 de Julio	Fresnillo	Zacatecas
	2 de Agosto	San Felipe y Cuernámaro	Guanajuato
	10 de Agosto	Rincón de Romos	Aguaascalientes
	12 de Agosto	Maravatío y Vista Hermosa	Michoacán
	15 de Agosto	El Capadero, Municipio de San Juan de Guadalupe	Durango
	16 de Agosto	Tepatitlán	Jalisco
19 de Agosto	Tepic	Nayarit	
24 de Agosto	Elota	Sinaloa	
26 de Agosto	Cd. Camargo	Chihuahua	

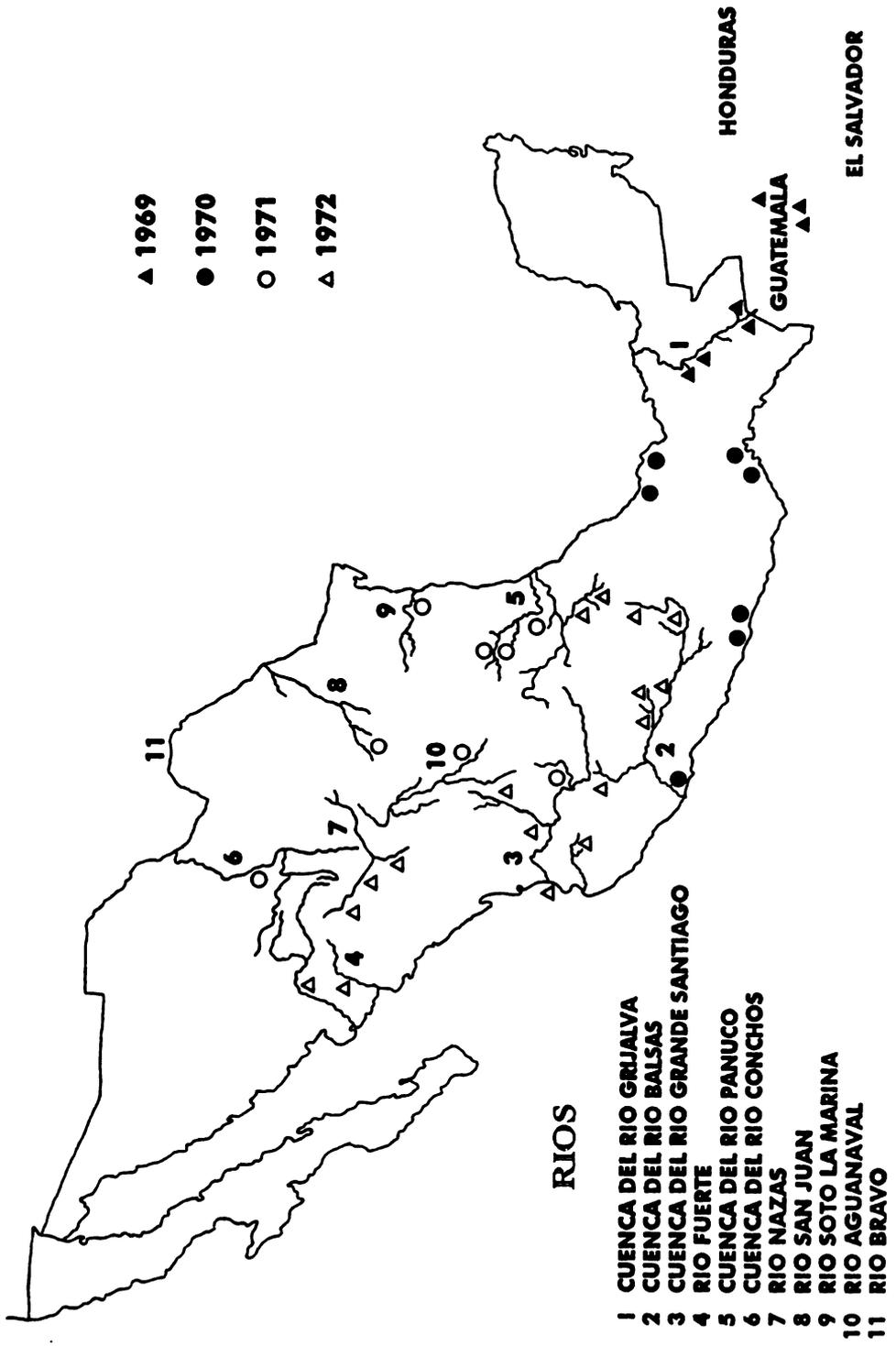
CUADRO 4. CRONOLOGÍA DE LOS BROTES DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LA REPÚBLICA MEXICANA, 1969-1972 (11,35,141,142) (Continuación)

1972	16 de Enero	Coyuca de Catalán	Guerrero
	18 de Febrero	Huetamo, San Lucas, Tiquicheo	Michoacán
	23 de Abril	Tula	Hidalgo
	6 de Mayo	Atotonilco, Mineral del Chico	Hidalgo
	6 de Mayo	Iguala	Guerrero
	6 de Mayo	Rodeo y San Juan del Río	Durango
	16 de Mayo	Huejuquilla, Bolaños	Jalisco
	10 de Junio	Monte Escobedo y Valparaíso	Zacatecas
	16 de Junio	Apatzingán	Michoacán
	16 de Junio	San Blas	Nayarit
	19 de Junio	Zacatepec	Morelos
	5 de Julio	Ixcamilpa de Guerrero, Izúcar de Matamoros	Puebla
	14 de Julio	Tatlays, Amatepec y Tejupíco	Estado de México
	14 de Julio	Tomatlán	Jalisco
	4 de Agosto	Novojos, Alamos y Huatabampo	Sonora
	19 de Septiembre	Islas Marías	Nayarit

FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN DE LA EEV EN EL CONTINENTE AMERICANO



Fig. 2 CRONOLOGIA DE LA EPIZOOEMIA DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA DE 1969 A 1972 Y SU RELACION CON ALGUNAS CUENCAS DE RIOS DE LA REPUBLICA MEXICANA



FUENTE : REFERENCIAS 9, 28, 99, 100

REFERENCIAS

1. Aitken, T.H.G.: Habits of some mosquito hosts of VEE (Mucambo) virus from northeastern South America, including Trinidad. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuela encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 254-256, 1972.
2. Aitken, T.H.G., Spence, L., Jonkers, A.H., and Downs, W.G.: A 10 year survey of trinidadian arthropods for natural virus infections (1953-1963). J. Med. Entomol., 6: 207-215, 1969.
3. Ascher, M.S., Jahrling, P.B., Harrington, D.G., Kishimoto, R.A. and McGann, V.G.: Mechanisms of protective immunogenicity of microbial vaccines: Effects of cyclophosphamide pretreatment in Venezuelan encephalitis, Q fever and tularemia. Clin. Exp. Immunol., 41: 225-236, 1980.
4. Baquerizo, A. L. y Mármol, C.: Encefalitis a virus transmitidos por artrópodos, III. Influencia de la edad de los ratones blancos en la susceptibilidad para una cepa de virus Venezolano. Rev. Ecuator. Hig. Med. Trop., 15: 163-176, 1958.
5. Batalla-Campero, D.: Vacunas de Encefalitis Equina Venezolana. En, Ciencia Veterinaria, Editado por R. Moreno-Chan, Publicado por la Fac. Med. Vet. Zoot., UNAM, México, D.F., 1976, vol 1, p: 205-221.
6. Batalla, D., Mercado, S., Gutiérrez, C.C. y Martínez, H.: Aislamiento del virus de la Encefalitis Equina de Venezuela a partir de saliva, lágrima y cerebro de murciélagos *Desmodus rotundus* inoculados experimentalmente. Resúmenes de la XI Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. SAG. México, 1974.
7. Bautista, C.R., Mercado, S.S. and Morilla, A.: Experimental infection of *Anopheles albimanus* and *Culex thriambus* mosquitoes with Venezuelan equine encephalomyelitis virus TC-83 strain. Mosquito News, 37: 15-18, 1977.
8. Beck, C.E. and Wyckoff, R. W.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis Science, 88: 530, 1938.
9. Berge, T.O., Banks, I.S. and Tigertt, W.D.: Attenuation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by *in vitro* cultivation in guinea pig heart cells. Amer. J. Hyg., 73: 209-218, 1961.

10. Berge, T.O. (Editor): International Catalogue of Arbovirus including certain other viruses of vertebrates. 2nd edition. DHEW Publication No. (CDC) 75-8301, U.S.A., 1975.
11. Borunda-Falcón, O., Campos, J.M., Lefranc, C., Contreras, M.E., Villegas, A.R., Escotto, T., Castañón, I., Orozco, L.H. y Pérez, E.: La Encefalitis Equina Venezolana como problema de Salud Pública en México. Bases para su prevención. Trabajo presentado a la I Convención de Salud, 16 a 20 de julio de 1973, México, D.F.
12. Bowen, G.S.: Human Disease: USA. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971. (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 231-234, 1972.
13. Bowen, G.S.: Experimental infection of North American mammals with epidemic Venezuelan encephalitis virus. Am. J. Trop. Med. Hyg., 25: 891-899, 1976.
14. Bowen, G.S and Calisher, H.C.: Virological and serological studies of Venezuelan equine encephalomyelitis in humans. J. Clin. Microbiol., 4: 22-27, 1976.
15. Briceño-Rossi, A. L.: Estudios del virus encefalomielítico equino venezolano. La búsqueda y el estudio del virus encefalítico venezolano en las aves del país. Rev. Venezolana Sanidad Aistencia Social, 29: 432-437, 1964.
16. Briceño-Rossi, A.L.: Rural epidemic encephalitis in Venezuela caused by a Group A arbovirus. Progr. Med. Virol., 9: 176-203, 1967
17. Buckley, S.M. and Clarke, D.H.: Differentiation of Group A arboviruses Chikungunya, Mayaro and Semliki Forest by the fluorescent antibody technique. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 135: 533-539, 1970.
18. Burke, D.S., Ramsburg, H.H. and Edelman, R.: Persistence in humans of antibody to subtypes of Venezuelan equine encephalomyelitis (VEE) virus after immunization with attenuated (TC-83) VEE virus vaccine. J. Infect. Dis., 136: 354-359, 1977
19. Bykovsky, A. F., Yershov, F.I., and Zhdanov, V.M.: Morphogenesis of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. J. Virol., 4: 496-504. 1969.

20. Calisher, C.H. and Maness, K.S.C.: Arbovirus identification by an agar gel diffusion technique. *Appl. Microbiol.*, 19: 557-564, 1970.
21. Calisher, C.H., Kinney, R.M., De Souza, L.O., Trent, D.W., Monath, T.P. and Francly, D.B.: Identification of a new Venezuelan equine encephalitis virus from Brazil. *Am J. Trop. Med. Hyg.*, 31: 1260-1272, 1982.
22. Calisher, C.H., Honath, T.P., Mitchell, C.J., Sabattini, H.S., Cropp, C.B., Kerschner, J., Hunt, A.R. and Lazuick, J.S.: Arbovirus investigations in Argentina, 1977-1980. III. Identification and characterization of viruses isolated, including new subtypes of Western, and Venezuelan equine encephalitis viruses and four new Bunyaviruses (Las Maloyas, Resistencia, Barranqueras and Antequera). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34: 956-965, 1985.
23. Casals, J.: Arbovirus infections. En, *Serological Epidemiology*. Editado por J. R. Paul y C. White, Academic Press, New York and London., pp. 99-117, 1973.
24. Causey, O.R., Causey, C. E, Maroja, O. M and Macedo, D.G.: The isolation of arthropod-borne viruses, including members of two hitherto undescribed serological groups in the Amazon region of Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 10: 227-236, 1961.
25. CDC. (Communicable Disease Center): Zoonoses Surveillance. Venezuelan Equine Encephalitis VEE Summary, 1: 1, 1972.
26. CDC. (Center for Disease Control): Morbidity and Mortality., 22: 126-131, 1973.
27. Chamberlain, R.W.: Anophelines arbovirus vectors. *Anal Microbiol. Univ., Brasil*, 11: 89-93, 1963.
28. Chamberlain, R.W.: Venezuelan Equine Encephalitis: infection of mosquitoes and transmission. En *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C. September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No 243), pp. 144-147, 1972.
29. Chamberlain, R.W., Kissling, R.E., Stamm, D.D., Nelson, D.B., and Sikes, R.K.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis in wild birds. *Am. J. Hyg.*, 63: 261-273, 1956a.

30. Chamberlain, R.W., Sikes, R.K. and Nelson, D.B.: Infection of *Mansonia perturbans* and *Psorophora ferox* mosquitoes with Venezuelan equine encephalomyelitis virus. Proc. Exptl. Biol. Med., 91: 215-216, 1956b.
31. Chamberlain, R.W., Sudia, W.D., Coleman, P.H., and Work, T.H.: Venezuelan equine encephalitis virus from south Florida. Science, 145: 272-274, 1964.
32. Chamberlain, R.W., Sudia, W.D., Work, T.H., Coleman, P.H., Newhouse, V.F., and Johnson, J.G.: Arbovirus studies in South Florida with emphasis on Venezuelan equine encephalomyelitis virus. Am. J. Epidemiol., 89: 197-210, 1969.
33. Chávez, C., Pinzón, J., Jara, B. y Morilla, A.: Informe de trabajo presentado al Dr. Gustavo Reta el 18 de julio de 1969
34. Clarke, D.H. and Casals, J.: Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. Am. J. Trop. Med. Hyg., 7: 561-573, 1958.
35. Correa-Girón, P.: Encefalitis Equina de Venezuela. Folleto publicado por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias SAG., México, 1972.
36. Correa-Girón, P., Morilla-González, A. y De Mucha-Macías, J.: Anticuerpos contra algunos arbovirus en murciélagos de Veracruz y San Luis Potosi. Resúmenes de la Sexta Reunión Anual. Diciembre 18-20, 1968. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG., México.
37. Correa-Girón, P., Calisher, C.H. and Baer, G.M.: Isolation of the epidemic strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from a vampire bat (*Desmodus rotundus*) captured in Oaxaca, México, 1970. Science, 175: 546, 1972.
38. Corrigan, E.C., LaMotte, L.C.Jr., and Smith, D.G.: Susceptibility of bats to certain encephalitis viruses. Fed. Proc., 15: 584, 1956.
39. Cupp, E.W, Scherer, W.F., Lok, J.B., Brenner, R.J., Dzien, G.M., and Ordoñez, J.V.: Entomological studies at an enzootic Venezuelan equine encephalitis virus focus in Guatemala, 1977-1980. Am. J. Trop. Med. Hyg., 35: 851-859, 1986.

40. Danes, L., Kufner, J., Hruskova, J., and Reychterova, V.: The role of the olfactory route on infection of the respiratory tract with Venezuelan equine encephalomyelitis virus in normal and operated *Macaca rhesus* monkeys. I. Results of virological examination. *Acta Virol.*, 17: 50-56, 1973.
41. Davies, J.B.: Studies in the life history and habits of *Culex (M) portesi* with relation to its involvement as a vector of arboviruses. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 258-260, 1972.
42. Davis, I.L.: A field guide to the birds of México and Central America. University of Texas Press, Austin and London, 1972.
43. Davis, M.H., Hogge, A.L.Jr., Corristan, E.C., and Ferrel, J.F.: Mosquito transmission of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from experimentally infected dogs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 15: 227-230, 1966.
44. Del Canto, M.C. and Rabinowitz, S.G.: Central nervous system demyelination in Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection: An experimental model of virus-induced myelin injury. *J. Neurol. Sci.*, 49: 397-418, 1981.
45. Del Monte, S.M., Castro, F., Bonilla, N.J., Gaskin de Urdaneta, A. and Hutchins, G.M.: The systemic pathology of Venezuelan equine encephalitis virus infection in humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34: 194-202, 1985.
46. De Mucha-Macías, J.: Infecciones por virus Arbor. *Gaceta Médica de México*, XCIII: 415-420, 1963.
47. De Mucha-Macías, J. and Sánchez-Spíndola, I.: Two human cases of laboratory infection with Mucambo virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14: 471-478, 1965.
48. De Mucha-Macías, J., Sánchez Spíndola, I. y Campillo-Sainz, C.: Venezuelan equine encephalomyelitis antibodies in human beings of Southeastern México. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 15: 364-368, 1966.
49. De Mucha-Macías, J. y Morilla-González, A.: Encefalitis Equina de Venezuela. Estudio de una cepa aislada en México. *Rev. Invest. Salud Públ. (Méx).*, XXVII: 85-110, 1967.

50. Díaz Najera, A.: Investigación entomológica realizada en áreas afectadas por la Encefalitis Equina Venezolana. Rev. Invest. Salud Públ. (Méx.) XXXI: 219-237, 1972.
51. Dickerman, R.W.: Silent Hosts: Birds. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington. D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific publication No. 243), pp. 281-283, 1972.
52. Dickerman, R.W., and Scherer, W.F.: Serologic survey for antibodies to VE virus in Western and Northcentral México. Bol. Of. Sanit. Panam., 70: 550-556, 1971.
53. Dickerman, R.W., Zárate, M.L., Scherer, W.F., and De Mucha-Macías, J.: Venezuelan encephalitis virus along the central and northern Gulf coast of México as of July-September 1969, Bol. Of. Sanit. Panam., 71: 143-151, 1971.
54. Dickerman, R.W., Scherer, W.F., Moorhouse, A.S., Toaz, E., Essex, M.E., and Steele, R.E.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern México. VI. Infection in wild birds. Am. J. Trop. Med. Hyg., 21: 66-78, 1972.
55. Dickerman, R.W., Baker, G.J., Ordoñez, J.V., and Scherer, W.F.: Venezuelan equine encephalomyelitis viremia and antibody responses of pigs and cattle. Am. J. Vet. Res., 34: 357-361, 1973.
56. Dickerman, R.W., Bonacorsa, C.M. and Scherer, W.F.: Viremia in young herons and ibis infected with Venezuelan encephalitis virus. Am. J. Epidemiol., 104: 678-683, 1976.
57. Dickerman, R.W., Ryder, S. and Martin, M.S.: Arbovirus studies of bats from Zulia State: serological survey for Venezuelan, eastern and western encephalitis virus antibodies, February, 1976. Invest. Clin., 18: 63-68, 1977.
58. Dietz, W.H.Jr., Alvarez, O.Jr., Martin, D.H., Walton T.E., Ackerman, L.J. and Johnson, K.M.: Enzootic and epizootic Venezuelan equine encephalomyelitis virus in horses infected by peripheral and intrathecal routes. J. Infect. Dis., 137: 227-237, 1978.
59. Divo, A. and Benavides, G.: Papel del *Rhodnius prolixus* en la transmisión del virus de la encefalitis equina venezolana. Invest. Clín., 19: 108-115, 1978.

60. Downs, W.G., Wilbur, G., Spence, L., and Aitken, T.H.: Studies on the virus of Venezuelan Equine Encephalomyelitis in Trinidad, W. I. III. Reisolaton of virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11: 841-843, 1962.
61. Eklund, C. M.: Mosquito-transmitted encephalitis viruses. A review of their insect and vertebrate host and the mechanisms for survival and dispersion. *Exptl. Parasitol.*, 3: 285-305, 1954.
62. Erickson, G.A., Mare, C.J., Pearson, J.E., and Carbrey, E.A.: The goat as a sentinel for Venezuelan equine encephalomyelitis virus activity. *Am. J. Vet. Res.*, 35: 1536, 1974.
63. Esparza, J. and Sánchez, A.: Multiplication of Venezuelan equine encephalitis (Mucambo) virus in cultured mosquito cells. *Arch. Virol.*, 49: 273-280, 1975.
64. Ferguson, J.A., Reeves, W.C. and Hardy, J.L.: Antibody studies in ponies vaccinated with Venezuelan equine encephalomyelitis (strain TC-83) and other alphavirus vaccines. *Am. J. Vet. Res.*, 38: 425-430, 1977.
65. Ferguson, J.A., Reeves, W.C. and Hardy, J.L.: Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, 40: 5-10, 1979.
66. Fossaert, H.C.: Endemic behavior in man. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243). pp. 291-296, 1972.
67. Franck, P.T.: Significance of geographic distribution of VEE virus variants. En, *Proceedings of the Workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 322-328, 1972.
68. Froeschle, J.E., and Reeves, W.C.: Serologic epidemiology of Western equine and St. Louis encephalitis virus infection in California. II. Analysis of inapparent infections in residents of an endemic area. *Am. J. Epidemiol.*, 81: 44-51, 1965.
69. Gaidamovich, S.Ya., Khutoreiskaya, N. V., L'vova, A. J., and Sveshnikova, N.A.: Detection of group A arbovirus in the salivary glands of mosquitoes by immunofluorescence. *Vopr. Virusol.*, 1: 13-18, 1974.

70. Gajdusek, D.C., Anslow, R.O., Hubell, E.J., and Yager, R.H.: Tissue culture studies of Venezuelan equine encephalomyelitis virus: propagation in human uterine tissue. *J. Immunol.*, 72: 224-228, 1954.
71. Galindo, P.: Endemic vectors of Venezuelan encephalitis. En Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus . Washington, D.C. September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 249-253, 1972
72. Galindo, P., Srihongse, S., Rodaniche, E., and Grayson, M.A.: An ecological survey for arboviruses in Almirante, Panamá, 1959-1962. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 15: 385-400, 1966.
73. Galindo, P., and Grayson, M.A.: *Culex (Melanoconion) aikenii*: natural vector in Panamá of endemic Venezuelan encephalitis. *Science*, 172: 594-595, 1971.
74. Galindo, P., and Adams, A.J.: Ecological profile of *Culex (Melanoconion) aikenii*: (Diptera: Culicidae) vector of endemic Venezuelan encephalitis in Panamá. *Environ. Entomol.*, 2: 81-86, 1973.
75. Gallo de la Torre, M., Bautista, C.R.G., Zárate, M.L., Rosales, C. y Morilla, A.: Evaluación de la respuesta serológica de los bovinos al virus de la encefalitis equina venezolana infectados en forma natural y experimental. *Bol. Of. Panam.*, 86: 10-19, 1979.
76. Garman, J.L., Scherer, W.F., and Dickerman, R.W.: A study of equine virulence of naturally occurring Venezuelan encephalitis virus in Veracruz with description of antibody responses. *Bol. Of. San Panam.*, 65: 238-252, 1968.
77. Gilyard, R. T.: Mosquito transmission of Venezuelan virus equine encephalomyelitis in Trinidad. *Bull. U.S. Army Med. Dept.*, 1 No. 75: 96-107, 1944.
78. Gilyard, R.T.: A clinical study of Venezuelan virus equine encephalomyelitis in Trinidad, B.W.I., *J.A.V.M.A.*, 151: 267-277, 1945.
79. Gleiser, C. A., Gochenour, W.S. Jr., Berge, T.O. and Tigert, W.D.: The comparative pathology of experimental Venezuelan Equine Encephalomyelitis infection in different animal hosts. *Jour. Infect. Dis.*, 110: 80-97, 1962.

80. Goldsmith, R.S., Zárate, M.I., Cedeno, J.F. and Paz, F.A.: Seroepidemiologic studies in Oaxaca, México: 2. Survey for arbovirus antibody. *Arch. Invest. Med.*, 10: 239-260, 1979.
81. Grayson, M.A., and Galindo, P.: Epidemiologic studies of Venezuelan equine encephalitis virus in Almirante, Panamá, *Amer. J. Epidemiol.*, 88: 80-96, 1968.
82. Grayson, M.A., and Galindo, P.: Ecology of Venezuelan equine encephalitis virus in Panamá. *J.A.V.M.A.*, 155: 2141-2145, 1969.
83. Groot, H.: Estudios sobre virus transmitidos por artrópodos en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cien. Exac. Nat.*, 7: 3-23, 1964.
84. Groot, H.: The health and economic impact of Venezuelan Equine Encephalitis (VEE). En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971. (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 7-16, 1972.*
85. Gutiérrez, E.V., Monath, T.P., Alava, A. Uriguen, D., Chamberlain, R.W. and Arzube, M.: Epidemiological investigations of the 1969 epidemic of Venezuelan encephalitis in Ecuador. *Publicación del Instituto Nacional de Higiene Leopoldo Izquieta Pérez, Ministerio de Salud Pública, Ecuador.*
86. Hammon, W.M., and Sather, G.E.: Arboviruses. En. *Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. Ed. por E.H. Lennette and N.J. Schmidt., American Public Health Association, Inc., New York, pp. 237-280, 1969.*
87. Hardy, F.M.: The growth of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in various tissue cultures. *Amer. J. Hyg.*, 70: 21-27, 1959.
88. Hawkes, R., and Marshall. I.: Studies of arboviruses by agar-gel diffusion. *Am.J. Epidemiol.*, 86: 28-44, 1967.
89. Hearn, H.J.: A variant of Venezuelan equine encephalomyelitis virus attenuated for mice and monkeys. *J. Immunol.*, 84: 626-629, 1960.
90. Hilmas, D.E., Whitmire, R.E. and Dill, G.S.Jr.: Modification of Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection in mice by X radiation. *Am. J. Vet. Res.*, 38: 1413-1420, 1977.

91. Hoff, G.L., and Trainer, D.O.: Experimental infection of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in white-tailed deer. *Amer. J. Epidemiol.*, 96: 379-382, 1972.
92. Homan, E.J., Zuluaga, F.N., Yuill, T.M., Lorbacher de R., H.: Studies on the transmission of Venezuelan equine encephalitis virus by Colombian Simuliidae (Diptera). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34: 799-804, 1985.
93. Houston, W.E., Crabbs, C.L., Kremer, R.J. and Springer, J.W.: Adjuvant effects of diethyl-aminoethyl-dextran. *Infect. Immun.*, 13: 1559-1562, 1976.
94. Houston, W.E., Kremer, R.J., Crabbs, C.L. and Spertzell, R.O.: Inactivated Venezuelan equine encephalomyelitis virus vaccine complexed with specific antibody: Enhanced primary immune response and altered patterns of antibody class elicited. *J. Infect. Dis.*, 135: 600-610, 1977.
95. Howard, A.T.: Experimental infection and intracage transmission of Venezuelan equine encephalitis virus (suptype IB) among cotton rats *Sigmodon hispidus* (Say and Ord). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23: 1178-1184, 1974.
96. Howell, J.C.: Populations and home ranges of small mammals on an overgrown field, *J. Mammol.*, 35: 177-186, 1954.
97. Jahrling, P.B. and Eddy, G.A.: Comparison among members of the Venezuelan encephalitis virus complex using hydroxylapatite column chromatography. *Am. J. Epidemiol.*, 106: 408-417, 1977.
98. Jahrling, P.B., Hesse, R.A. and Metzger, J.F.: Radioimmunoassay for quantitation of antibodies to alphaviruses with staphylococcal protein A. *J. Clin. Microbiol.*, 8: 54-60, 1978a.
99. Jahrling, P.B., DePaoli, A. and Powanda, M.C.: Pathogenesis of a Venezuelan encephalitis virus strain lethal for adult white rats. *J. Med. Virol.*, 2: 109-116, 1978b.
100. Jahrling, P.B. and Stephenson, E.H.: Protective efficacies of live attenuated and formaldehyde-inactivated Venezuelan equine encephalitis virus vaccines against aerosol challenge in hamsters. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 429-431, 1984.

101. Jonkers, A.H.: Silent hosts of Venezuelan equine encephalitis (VEE) virus in endemic situation: Mammals. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September 1971. (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 263-267, 1972.
102. Jonkers, A.H., Spence, L., Downs, W.G., Aitken, T.H.G., and Tikasingh, E.S.: Arbovirus studies in Bush forest, Trinidad, W.I., September 1959-December 1964. 5. Virus isolations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17: 276-284, 1968a.
103. Jonkers, A.H., Spence, L., Downs, W.G., Aitken, T.H.G., and Worth, C.B.: Arbovirus studies in Bush Bush forest, Trinidad, W.I.; September, 1959 - December, 1964. 6. Rodent-associated viruses (VEE and agents of group C and Guamá): isolations and further studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 177: 285-298, 1968b.
104. Justines, G. and Sousa, O.E.: Survival of arboviruses in trypanosome-infected triatomines. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26: 326-328, 1977.
105. Justines, G., Sucre, H. and Alvarez, O.: Transplacental transmission of Venezuelan equine encephalitis virus in horses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29: 653-656, 1980.
106. Kissling, R.E.: Epidemic behaviour of Venezuelan encephalitis infection diseased hosts: Equines. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington. D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 263-267, 1972.
107. Kissling, R.E., Chamberlain, R.W., Nelson, D.B., and Stam, D.D.: Studies on the North American arthropod-borne encephalitides. VIII. Equine encephalitis studies in Louisiana. *Am. J. Hyg.*, 62: 233-254, 1955.
108. Kissling, R.E., Chamberlain, R.W., Nelson, D.B., and Stam. D.D.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis in horses. *Am. J. Hyg.*, 63: 274-287, 1956.
109. Kissling, R.E., and Chamberlain, R.W.: Venezuelan Equine Encephalitis. *Adv. Vet. Sci.*, 11: 65-84, 1967.

110. Koprowski, H., and Lennette, E.H.: Pathogenesis of Venezuelan equine encephalomyelitis virus infections in the developing chick embryo. *J. Bacteriol.*, 48: 463-472, 1944.
111. Kubes, V., and Ríos, F.A.: The causative agent of infectious equine encephalomyelitis in Venezuela. *Science*, 90: 20-21, 1939.
112. Kubes, V.: Venezuelan-type equine encephalomyelitis in Trinidad. *Science*, 99: 41-42, 1944.
113. London, W.T., Levitt, N.H., Kent, S.G., Wong, V.G. and Sever, J.I.: Congenital cerebral and ocular malformations induced in rhesus monkeys by Venezuelan equine encephalitis virus. *Teratology*, 16: 285-296, 1977.
114. Lovejoy, T.: En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971. (Pan America Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 286-288, 1972.
115. Lundgren, D.L., and Smart, K.L.: Experimental infection of coyote pups with Venezuelan equine ecephalomyelitis virus. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 18: 268-272, 1969.
116. Mackenzie, R.B.: The role of silent vertebrate hosts in epidemics of Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 239-243, 1972.
117. Martin, D.H., Dietz, W.H., Alvarez, O.Jr. and Johnson, K.M.: Epidemiological significance of Venezuelan equine encephalomyelitis virus *in vitro* markers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32: 561-568, 1982.
118. Mathews, J.H. and Roehrig, J.T.: Determination of the protective epitopes on the glycoproteins of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by passive transfer of monoclonal antibodies. *J. Immunol.*, 129: 2763-2767, 1982.
119. McConell, S.: Desarrollo y control de las vacunas a virus vivo modificado para el control de la encefalitis equina venezolana (EEV). En: Informe de la Mesa Redonda Internacional sobre Encefalitis Equina tipo Venezuela. SAG/OPS. México, D.F., México, 12-14 de mayo de 1971.

120. Mellink, J.J.: Estimation of the amount of Venezuelan equine encephalomyelitis virus transmitted by a single infected *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 19: 275-280, 1982.
121. Monlux, W.S., and Luedke, A.J.: Brain and spinal cord lesions in horses inoculated with Venezuelan equine encephalomyelitis virus (epidemic American and Trinidad strain). *Am. J. Vet. Res.*, 34: 465-474, 1973.
122. Moore, R.M., Moulthrop, J.I.Jr., Sather, G.E., Holmes, C.L. and Parker, R.L.: Venezuelan equine encephalitis survey in Arizona and New Mexico, 1972. *Publ. Hlth. Repts.*, 92: 357-360, 1977.
123. Morilla-González, A. y De Mucha-Macías, J.: Estudio de una epizootia de Encefalitis Equina de Venezuela ocurrida en Tamaulipas, Méx. *Rev. Invest. Salud Públ. (Méx.)*, XXIX: 3-20, 1969.
124. Murphy, L.C., Hubbell, E.J., and Yager, R.H.: Propagation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in cultures of human malignant epithelial cell, strain HeLa. *Am. J. Vet. Res.*, 16: 304-307, 1955.
125. Murphy, A.F. and Harrison, A.K.: The virus: morphology and morphogenesis. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp 28-39, 1972.
126. Mussgay, M.: Identification of equine encephalitis viruses by simple plaque technique. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11: 291-293, 1962.
127. Mussgay, M., and Weibel, J.: Electron microscopic and biological studies on the growth of Venezuelan equine encephalitis virus in KB cells. *Virology*, 16: 52-62, 1962.
128. Mussgay, M., and Rott, R.: Studies on the structure of a hemagglutinating component of a Group A arbovirus (Sindbis). *Virology*, 23: 573-581, 1964.
129. Noé-Martínez, L.P.: Encuesta serológica de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación para encefalitis equina venezolana en algunos mamíferos domésticos. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M., México, D.F., 1973.

- 130. Novokhatskii, A.S., Labzo, S.S., Melik-Andreasyan, G.G., Tsareva, A.A., Mikhailova, G.R., Gushchin, B.V., Gushchina, E.A., Rodova, M.A., Barinskii, I.F. and Gaidamovich, S.Ya.: Alphavirus reproduction in transplanted human lymphoblastoid cell cultures in persistent infection. Vopr. Virusol., 8: 153-160, 1981.**
- 131. Odum, E.P.: An eleven-year history of a Sigmoidon population. J. Mammol., 36: 368-378, 1955.**
- 132. Payán, M.J. and Adams, G.: Immunofluorescence study of Venezuelan equine encephalitis (VEE) in experimental infected animals. Rev. Inst. Colomb. Agropec., 13: 135-140, 1978.**
- 133. Pedersen, C.E.Jr., Robinson, D.M. and Cole, F.E.Jr.: Isolation of the vaccine strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from mosquitoes in Louisiana. Am. J. Epidemiol., 95: 490-496, 1971.**
- 134. Pedersen, C.E.Jr., and Eddy, G.A.: Separation, isolation, and immunological studies of the structural proteins of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. J. Virol., 14: 740-744, 1974.**
- 135. Prias-Landinez, E., and Bernal-Cubides, C.: Comunicación personal a Arbovirus Information Exchange. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.**
- 136. Pruslin, F.H. and Scherer, W.F.: Intracellular localization of core and envelope proteins of Venezuelan encephalitis virus by immunofluorescence. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 164: 421-425, 1980.**
- 137. Rabinowitz, S.G.: Host immune responses after administration of inactivated Venezuelan equine encephalomyelitis virus vaccines: I. Description and characterization of adoptive transfer by immune spleen cells. J. Infect. Dis., 134: 30-38, 1976a.**
- 138. Rabinowitz, S.G.: Host immune responses after administration of inactivated Venezuelan equine encephalomyelitis virus vaccines: II. Kinetics of neutralizing antibody responses in donors and adoptively immunized recipients. J. Infect. Dis. 134: 39-47, 1976b.**
- 139. Randal, R., and Mills, J.W.: Fatal encephalitis in man due to Venezuelan virus of equine encephalomyelitis in Trinidad. Science, 99: 225-226, 1944.**

140. Rayfield, E.J., Seto, Y., Walsh, S. and Mcevoy, C.: Virus induced alterations in insulin release in hamster islets of Langerhans. *J. Clin. Invest.*, 68: 1172-1181, 1981.
141. Reta, G.: Equine Disease: México, En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 209-213, 1972.
142. Reta-Petterson, G. y Sanz-Bienzobas, R.: La Encefalitis Equina Venezolana como problema de salud pública en México. Trabajo presentado a la I Convención Nacional de Salud, 16 a 20 de julio de 1973, México, D.F.
143. Robaud, E., Lepine, P., Treillard, M. et Sauter, V.: Infection experimental de culicides (*Aedines*) europeéns avec le virus de l'encephalomyelitis equine Americaine type Venezuela. *Bull. Soc. Pathol. Exotique*, 34: 130, 1941.
144. Sanmartín, C., Mackenzie, R.B., Trapido, H., Barreto, P., Mullenax, C.H., Gutiérrez, S. y Lesmes, C.: Encefalitis Venezolana en Colombia, 1967. *Bol. Of. San. Panam.*, 74: 108-137, 1973.
145. Schaffer, P.A. and Scherer, W.F.: Stability of virulence and plaque size of Venezuelan encephalitis virus passage in mosquitoes (*Aedes aegypti*). *Am. J. epidemiol.*, 93, 68-74, 1971.
146. Schaffer, P.A. and Scherer, W.F.: Growth of Venezuelan encephalitis virus and disappearance of Coxsackie A, Rous Sarcoma, Herpes Simplex and Vaccinia virus following inoculation of *Aedes aegypti* and other mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 11: 189-196, 1974.
147. Scherer, W.F., Dickerman, R.W., Wong-Chia, C., Ventura, A., Moorhouse, A., Geiger, R., and Díaz-Najera, A.: Venezuelan equine encephalitis virus in México and the use of hamsters as sentinels. *Science*, 145: 274-275, 1964.
148. Scherer, W.F., Dickerman, R.W., and Ordóñez, J.V.: Discovery and geographic distribution of Venezuelan encephalitis virus in Guatemala, Honduras, and British Honduras during 1965-68, and its possible movement to Central América and México. *Amer. J. Trop. Med.*, 19:703-711, 1970.

149. Scherer, W.F., Dickerman, R.W., Díaz-Nájera, A., Ward, B.A., Miller, M.H. and Schaffer, P.A.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern, México. III. Infection of mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 20: 969-979, 1971a.
150. Scherer, W.F., Dickerman, R.W., La Fiandra, R.P., Wong-Chia, C., and Terrian, J.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern, México. IV. Infections of wild mammals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 20: 980-988, 1971b.
151. Scherer, W.F., Campillo-Saíñz, C., De Mucha-Macías, J., Dickerman, R.W., Wong-Chía, C., and Zárate, M.L.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern, México. VII. Infection of man. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21:79-85, 1972.
152. Scherer, W.F., Anderson, K., Pancake, B.A., Dickerman, R.W. and Ordoñez, J.V.: Search for epizootic-like Venezuelan encephalitis virus at enzootic habitats in Guatemala during 1969-1971. *Am. J. Epidemiol.*, 103: 576-588, 1976a.
153. Scherer, W.F., Ordoñez, J.V., Dickerman, R.W. and Navarro, J.E.: Search for persistent epizootic Venezuelan encephalitis virus in Guatemala, El Salvador and Nicaragua during 1970-1975. *Am. J. Epidemiol.*, 104: 60-73, 1976b.
154. Scherer, W.F. and Chin, J.: Sensitivity of *Toxorhynchitesamboinensis* mosquitoes versus chicken embryonic cell cultures for assays of Venezuelan encephalitis virus. *J. Clin. Microbiol.*, 13: 947-950, 1981.
155. Scherer, W.F., Cupp, E.W., Lok, J.B., Brenner, R.J. and Ordoñez, J.V.: Intestinal threshold of an enzootic strain of Venezuelan encephalitis virus in *Culex taeniopus* mosquitoes and its implication to vector competency and vertebrate amplifying hosts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30: 862-869, 1981.
156. Scherer, W.F., Cupp, E.W., Dziem, G.M., Breener, R.J. and Ordoñez, J.V.: Mesenteronal infection threshold of an epizootic strain of Venezuelan encephalitis virus in *Culex (Melanoconion) taeniopus* mosquitoes and its implication to the apparent disappearance of this virus strain from an enzootic habitat in Guatemala. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31: 1030-1037, 1982.
157. Scherer, W.F., Dickerman, R.W., Cupp, E.W. and Ordoñez, J.V.: Ecologic observations of Venezuelan encephalitis virus in vertebrates and isolations of Nepuyo and Patois viruses from sentinel hamsters at Pacific and Atlantic habitats in Guatemala, 1968-1980. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34: 790-798, 1985.

158. Scherer, W.F., Weaver, S.C., Taylor, C.A. and Cupp, E.W.: Vector incompetency: Its implication in the disappearance of epizootic Venezuelan equine encephalomyelitis virus from Middle America. *J. Med. Entomol.*, 23: 23-29, 1986.
159. Sellers, R.F., Bergold, G.H., Suárez, O.M., and Morales, A.: Investigations during the Venezuelan Equine Encephalitis outbreaks in Venezuela, 1962-1964. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 14: 460-469, 1965.
160. Seymour, C., Dickerman, R.W. and Martin, M.S.: Venezuelan encephalitis virus infection in Neotropical bats: I. Natural infection in Guatemalan enzootic focus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27: 290-296, 1978a.
161. Seymour, C., Dickerman, R.W. and Martin, M.S.: Venezuelan encephalitis virus infection in Neotropical bats. II. Experimental infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27: 297-306, 1978b.
162. Seymour, C. and Dickerman, R.W.: Venezuelan encephalitis virus infection in Neotropical bats. III. Experimental studies on virus excretion and non-arthropod transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27: 307-312, 1978.
163. Shope, R.E.: En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No.243), pp. 271-273, 1972.
164. Shope, R.E., Causey, O.R., Paes de Andrade, A. H., and Theiler, M.: The Venezuelan equine encephalomyelitis complex of group A arthropod borne viruses, including Mucambo and Pixuna from the Amazon region of Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 13:723-728, 1964.
165. Spertzel, R.O., and Kahn, D.E.: Safety and efficacy of an attenuated Venezuelan equine encephalomyelitis vaccine for use in equidae. *J.A.V.M.A.*, 159: 731-738, 1971.
166. Spertzel, R.O., Crabbs, C.L. and Vaughn, R.E.: Transplacental transmission of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in mice. *Infect. Immun.*, 6: 339-343, 1972.
167. Stelman, C. et Santucci, J.: Le complexe des encephalomyélites équines Venezuéliennes. *Bull. Off. int. Epiz.*, 75: 1027-1097, 1971.

168. Sudia, W. D., and Newhouse, V.F.: Venezuelan Equine Encephalitis in Texas, 1971. Informational reports. Mosquito News, 31:350-351, 1971.
169. Sudia, W.D., Lord, R.D., Newhouse, V.F., Miller, D.L., and Kissling, R.E.: Vector-host studies of an epizootic of Venezuelan equine encephalomyelitis in Guatemala, 1969. Am. J. Epidemiol., 93: 137-143, 1971a.
170. Sudia, W.D., Newhouse, V.F., and Henderson, B.E.: Experimental infection of horses with three strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus: 2. Experimental vector studies. Am. Epidemiol., 93: 206-211, 1971b.
171. Sudia, W.D., Fernández, Z.L., Newhouse, V.F., Sanz, B.R. y Calisher, C.H.: Estudios sobre ecología de vectores de Arbovirus en México durante el brote de Encefalitis Equina Venezolana de 1972. Publicación del Departamento de Sanidad Equina, Dirección General de Sanidad Animal, S.A.G. México.
172. Sudia, W.D. and Newhouse, V.F.: Epidemic venezuelan equine encephalitis in North America: A summary of virus-vector-host relationships. Am. J. Epidemiol., 101: 1-13, 1975.
173. Sutton. L.S., and Brook, C.C.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis due to vaccination. J.A.V.M.A., 55: 1437-1476, 1954.
174. Taber, L.E., Hogge, A.L.Jr. and Mckinney, R.W.: Experimental infection of dogs with two strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. Am. J. Trop. Med. Hyg., 14: 651-674, 1965.
175. Tasker, J.B., Miesse, M.L., and Berge, T.O.: Studies on the virus of Venezuelan equine encephalomyelitis. III. Distribution in tissues of experimentally infected mice. Am. J. Trop. Med. Hyg., 11: 844-850, 1962.
176. Taylor, R.M.: Catalogue of Arthropod-Borne viruses of the world. Public Health Service. Publication No. 1760. U.S. Department of Health, Education and Welfare, USA, 1967.
177. Taylor, W.M. and Buff, E.: Transmissibility of an attenuated Venezuelan equine encephalomyelitis vaccine virus. J.A.V.M.A., 161: 159-163, 1972.
178. Theiler, M.: Action of sodium desoxycholate on Arthropod-Borne viruses. Proc. Soc. Biol. Med., 96: 380-382, 1957.

179. Thorpe, B.D. *et al.*, 1965 Datos no publicados. La referencia aparece en Sidwell *et al.*, Epidemiological aspects of Venezuelan equine encephalitis virus infections. *Bacteriological Reviews*, 31: 65-81, 1967.
180. Thorpe, B.D., Smarth, K.L., and Sidwell, R.W.: Arbovirus complement fixing antibodies in sera of wildlife of west central Utah. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 118: 179-181, 1965.
181. Trapido, H.: Geographic distribution and ecologic setting. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific, Publication No. 243), pp. 302-312, 1972.
182. Trent, D.W., Clewey, J.P., France, J.K. and Bishop, D.H.L.: Immunochemical and oligonucleotide fingerprint analysis of Venezuelan equine encephalomyelitis complex viruses. *J. Gen. Virol.*, 43: 365-381, 1979.
183. Vilchis-Villaseñor, J.: Human Disease: México. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C., September, 1971 (Pan American Health Organization, Scientific Publication No. 243), pp. 215-217, 1972.
184. Villa, R.B., and Cokrum, E.L.: Migration in the guano bat *Tadarida brasiliensis mexicana* (Saussure). *J. Mammol.*, 43: 43-64, 1962.
185. Wachter, R.F., and Johnson, E.W.: Lipid content of the equine encephalitis viruses. *Fed. Proc.*, 21: 461, 1962.
186. Walder, R. and Bradish, C.J.: Venezuelan equine encephalomyelitis virus (VEEV): Strain differentiation and specification of virulence markers. *J. Gen. Virol.*, 26: 265-275, 1975.
187. Walder, R. and Suarez, O.M.: Studies of arboviruses in Southwestern Venezuela: I. Isolations of Venezuelan and eastern equine encephalitis viruses from sentinel hamsters in the Catatumbo region. *Int. J. Epidemiol.*, 5: 375-384, 1976.
188. Walker, D.H., Harrison, A., Murphy, K., Flemister, M. and Murphy, F.A.: Lymphoreticular and myeloid pathogenesis of Venezuelan equine encephalitis in hamsters. *Am. J. Pathol.*, 84: 351-370, 1976.

189. Walton, T.E. and Johnson, K.M.: Experimental Venezuelan equine encephalomyelitis infection of the bovine. *Infect. Immun.*, 5: 155-159, 1972a.
190. Walton, T.E. and Johnson, K.M.: Epizootiology of Venezuelan Equine Encephalomyelitis in the Americas. *J.A.V.M.A.*, 16: 1509-1515, 1972b.
191. Walton, T.E., Brautigam, F.E., Ferrer, J.A. and Johnson, K.M.: Epizootic Venezuelan equine encephalomyelitis in Central America. Disease pattern and vaccine evaluation in Nicaragua, 1969-1970. *Am. J. Epidemiol.*, 95: 247-254, 1972.
192. Watts, D.M., Thompson, W. H., Yuill, T.M., Defiart, G.R., and Hanson, R.P.: Overwintering of La Crosse virus in *Aedes triseriatus*. *Am. J. Trop. Med.Hyg.*, 23: 694-700, 1974.
193. Wenger, F.: Necrosis cerebral masiva del feto en casos de Encefalitis Equina Venezolana. *Invest. Clínica*, 21: 13-31, 1967.
194. Wiebe, M.E. and Scherer, W.F.: Virion envelope glycoproteins as epidemiological markers of Venezuelan encephalitis virus isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 11: 349-354, 1980.
195. Wildy, P.: Classification and Nomenclature of Viruses. Monographs in Virology. Vol. 5, Editado por, J. L. Melnick. and S. Kargen, A. G., 1971.
196. Wong-Chia, C. y Scherer, W.F.: Aislamiento del virus de la encefalitis venezolana en un murciélago frugívoro (*Artibeus turpis*) en México. *Bol. Of. San Panam.*, 70: 339-343, 1971.
197. Work, T.H.: Isolation and identification of arthropod-borne viruses. En, Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. Editado por E. H. Lennette and N.J. Schmidt. Third edition. American Public Health Association, Inc., pp. 312-355, 1964.
198. Young, N.A.: Serologic differentiation of viruses of the Venezuelan encephalitis (VE) complex. En, Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan ecephalitis virus. Washington, C.D., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 84-89, 1972.
199. Young, N.A. and Johnson, K.M.: Antigenic variants of Venezuelan equine encephalitis virus: their geographic distribution and epidemiological significance. *Am. J. Epidemiol.*, 89: 286-307, 1969a.

200. Young, N.A., and Johnson, K.M.: Viruses of the Venezuelan equine encephalomyelitis complex: infection and cross-challenge of rodents with VEE, Mucambo and Pixuna viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 18: 280-289, 1969b.
201. Young, N.A., Johnson, K.M., and Gauld, L.W.: Viruses of the Venezuelan Equine Encephalomyelitis Complex-Experimental infection of panamanian rodents. *Am.J. Trop.Med. Hyg.*, 18: 290-296, 1969.
202. Zárate, M.: Virulence aspects of VEE viruses. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D. C., September, 1971 (Pan American Health Organization, Scientific Publication No. 243), pp. 124-132, 1972.
203. Zárate, M.L. and Scherer, W.F.: Contact-spread of Venezuelan equine encephalomyelitis virus among cotton rats via urine or feces and the naso or oropharynx. A Possible transmission cycle in nature. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17: 894-899, 1968.
204. Zárate, M.L., Scherer, W.F. y Dickerman, R.W.: Un caso probable de Encefalitis Equina Venezolana ocurrido en Jaltipan, Veracruz, México, 1965. *Salud Pública Mex.*, 13: 97-99, 1971.

VII. LOS BOVINOS COMO CENTINELAS PARA DETECTAR LA ACTIVIDAD DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Morilla González Antonio, Carlos Ramón Bautista Garfias, María Luisa Zárate Aquino, Miguel Gallo de la Torre, Carlos Rosales Ortega

A. Introducción	161
B. Material y métodos	162
C. Resultados	162
D. Discusión	162
Referencias	164

A. INTRODUCCIÓN

Se han efectuado diversas encuestas serológicas en donde se ha demostrado que los bovinos poseen anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación y neutralizantes para el virus de la Encefalitis Equina Venezolana (Sellers et al., 1965; Morilla y De Mucha, 1969; Scherer et al., 1972a; Sudia et al., 1975a,b). Aparentemente la infección no se manifiesta en forma clínica por lo tanto se ha sugerido que puedan ser centinelas en áreas donde se vacuna a los equinos.

Sin embargo, con el uso extensivo de la cepa vacunal TC-83 de la EEV en las campañas de vacunación de los equinos, lleva a la posibilidad de que este virus pueda infectar a los bovinos a través de los mosquitos, lo cual impediría que estos animales se pudieran utilizar como verdaderos centinelas en zonas libres y en zonas enzoóticas (Taylor y Buff, 1972; Noé, 1973).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el papel de los bovinos como centinelas. Para esto, primero se hizo una encuesta serológica en bovinos de una zona enzoótica, y posteriormente se inocularon animales con diferentes concentraciones de virus vacunal TC-83 para determinar su inmunogenicidad y determinar si los anticuerpos hallados en bovinos corresponden a cepas silvestres o vacunales.

B. MATERIAL Y MÉTODOS

Áreas de muestreo. La zona enzoótica correspondió a Huixtla, Chiapas y como área testigo se seleccionó la zona de Tepozotlán en el Estado de México, localizada en el altiplano de la República Mexicana.

El estudio se realizó durante abril y mayo de 1975. Se obtuvieron sueros de 78 bovinos (51 menores de dos años de edad y 27 de más de dos (Cuadro 1).

Inoculación experimental a bovinos con la cepa TC 83. En el primer experimento se inocularon 3 bovinos con la cepa TC 83 por vía intramuscular y 36 días después fueron nuevamente inoculados. Dos animales recibieron 10^4 y uno 10^5 DL50/r/i/ml. Como testigos se dejaron dos animales.

En el segundo experimento se utilizaron 16 bovinos, se formaron cuatro lotes de cuatro animales cada uno y se inocularon por vía subcutánea con diferentes concentraciones de virus (Cuadro 2).

Prueba serológica. Se utilizó la prueba IH descrita por Clarke y Casals (15) en microplacas utilizando antígenos de EEV cepas TC 83 y 63U2, de encefalitis equina del este (EEE) y de la encefalitis equina del oeste (EEO). En el experimento de campo se consideró a un suero positivo cuando inhibía la hemaglutinación de una dilución de 1:40 en adelante.

C. RESULTADOS

Los resultados de la serología de los bovinos de la zona enzoótica se encuentran en el Cuadro 1. Ninguno de los animales inoculados una o dos veces con 10^4 y 10^5 o los testigos desarrollaron anticuerpos. Los resultados de la inoculación con 10^6 a 10^8 DL50/r/i/ml se encuentran en el Cuadro 2.

D. DISCUSIÓN

En los últimos años se ha sugerido que los bovinos puedan servir como animales centinelas para detectar la actividad viral en un área (Walton y Johnson, 1972; Dickerman et al., 1973; Sudia et al., 1975b). Los resultados de la encuesta serológica realizada en Huixtla, Chiapas confirman la hipótesis anterior, ya que la mayoría de los sueros de los bovinos, independientemente del grupo de edad, tuvieron anticuerpos contra la EEV y con títulos elevados. Los bovinos fueron divididos en dos grupos de edad con objeto de diferenciar animales infectados

durante el brote de EEV ocurrido de 1969 a 1972 y animales infectados en los últimos dos años, que sería indicación de actividad viral reciente para 1975.

Por otra parte, se ha sugerido que los anticuerpos IH encontrados en bovinos fueran causados por el virus vacunal de la EEV, cepa TC-83, utilizado en campañas masivas de vacunación (Noé, 1973). Esto es posible debido a que se ha demostrado que el virus vacunal se multiplica en mosquitos *Psorophora confinnis* en condiciones de campo en áreas donde se había vacunado doce días antes (Pedersen et al., 1971).

Sin embargo, otros estudios han indicado que la transmisión del virus no ocurre (McConell, 1971; Taylor y Buff, 1972; Walton y Johnson, 1972) y Sudia *et al.* (1971) apoyan esta hipótesis al informar que no pudieron infectar mosquitos a partir de caballos inoculados con el virus cepa TC 83. Debido a esta discrepancia se decidió inocular bovinos con el virus cepa TC-83 de EEV y evaluar la respuesta serológica. Los resultados indicaron que no se detectan anticuerpos IH en bovinos inoculados experimentalmente hasta con 10^6 DL50/rl/ic/ml. Al reinocular esos mismos animales en busca de una reacción anamnésica, tampoco se encontraron anticuerpos.

Cuando se inocularon bovinos con una concentración viral de 10^7 y 10^8 , se logró una respuesta serológica no mayor de 1:40 en dos de los animales y el título de anticuerpos empezó a declinar a partir de los 15 días de la inoculación. De acuerdo con estos resultados, el virus vacunal no provocó una marcada respuesta serológica y esto podría ser indicativo de que los anticuerpos IH encontrados en animales en el campo, con títulos mayores de 1:40, probablemente se deban a un virus enzoótico o epizoótico y no al virus vacunal. Además, los resultados negativos que se obtuvieron en la encuesta serológica realizada en bovino de uno a dos años de edad en Tepetzotlán, Estado de México, donde anualmente se vacuna a los equinos, indican que el virus vacunal no los infectó.

En la encuesta serológica, la edad de los bovinos con anticuerpos IH contra la EEV y los títulos encontrados en el área enzoótica de Huixtla, Chiapas, inducen a pensar que recientemente en esa zona existió actividad viral. Por otro lado, a fines de 1974 y principios de 1975, se tuvieron noticias de un probable brote de EEV en animales de Guatemala, cerca de la frontera con México y de la zona muestreada. Las dos áreas son ecológicamente similares y permite suponer que alteraciones ecológicas exacerbaron la actividad viral en toda la región, pero no se manifestó en México debido a que los equinos se encontraban vacunados. En los sueros de los bovinos se halló una ligera diferencia de títulos IH, cuando se utilizaron antígenos de las cepas TC-83 y 63U2 del virus de la EEV. El número de sueros con anticuerpos y los títulos fueron mayores hacia 63U2 lo que podría

indicar que el virus que infectó a los bovinos en el área de Huixtla, Chiapas, es el silvestre y no el de la vacuna.

Por otra parte, la baja incidencia de sueros positivos contra la EEE y la EEO indica que la actividad viral detectada en la zona enzoótica es causada por el virus de la EEV y no una respuesta serológica cruzada contra EEE o EEO (Clarke y Casals, 1958).

Se consideró que en este trabajo las sustancias inespecíficas inhibidoras de la hemaglutinación que se encuentran en bovinos (Sanderson 1968; Scherer et al., 1972a,b) no alteraron los resultados. La respuesta humoral correspondió a anticuerpos contra el virus de la EEV, debido a que los controles fueron negativos y en ningún momento mostraron algún tipo de reacción inespecífica. Además, los animales inoculados en forma experimental fueron incrementando sus títulos de anticuerpos IH en relación con el tiempo de inoculación y la dosis. En este caso, a pesar de haber obtenido respuesta de 1:10 en la prueba IH, se consideraron como específicos para el virus.

REFERENCIAS

Clarke, D.H. and Casals, J.: Techniques for hemagglutination inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 7:561-573, 1958

Dickerman, R.W., Baker, G.J., Ordóñez, J.V. and Scherer W.F.: Venezuelan equine encephalomyelitis viremia and antibody responses of pigs and cattle. *Am. J. Vet. Res.* 34:357-361, 1973.

McConell, S.: Desarrollo y control de las vacunas a virus vivo modificado para el control de la encefalitis equina venezolana (EEV). En, Informe de la Mesa Redonda Internacional sobre Encefalitis Equina tipo Venezuela. SAG/OPS. México, D.F., México, 12-14 de mayo de 1971.

Morilla G.A. y De Mucha-Macías, J: Estudio de una epizootia de encefalitis equina venezolana ocurrida en Tamaulipas, México. *Rev. Invest. Salud Pública*, 29:3-20,, 1969.

Noé-Martínez, L.P.: Encuesta serológica de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación para encefalitis equina venezolana en algunos mamíferos domésticos. Tesis, Fac. Med. Vet. Zoot., UNAM, México, 1973.

Pedersen, C.E.Jr., Robinson, D.M. and Cole, F.E.Jr.: Isolation of vaccine strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from mosquitoes in Louisiana. Am. J. Epidemiol., 95:490-496, 1971.

Sanderson, C.J.: A study of arbovirus non-specific inhibitors and natural agglutinins in bovine serum. Res. Vet. Sci., 9:400-407, 1968.

Scherer, W.F., Ordóñez, J.V., Jahrling, P.B., Pancake, B.A. and Dickerman, R.W.: Observations of equines, humans and domestic and wild vertebrates during 1969 equine epizootic and epidemic of Venezuelan encephalitis in Guatemala. Am. J. Epidemiol., 95:255-266, 1972a.

Scherer, W.F., Reeves, W.C., Hardy J.L. and Miura, T.: Inhibitors of Western and Venezuelan equine encephalitis viruses in cattle sera from Hawaii. Am. J. Trop. Med. Hyg., 21:189-193, 1972b.

Sellers, R.F., Bergold, G.H., Suárez O.M. and Morales, A.: Investigations during Venezuelan equine encephalitis outbreaks in Venezuela, 1962-1964. Am. J. Trop. Med. Hyg., 14:460-469, 1965

Sudia, W.D., and Newhouse, V.F.: Epidemic Venezuelan equine encephalitis in North America: A summary of virus vector-host relationships. Am. J. Epidemiol., 101:1-3, 1975a.

Sudia, W.D., McLean, R.G., Newhouse, V.F., Johnston, J.G. Jr., Miller, D.I., Treviño, H., Bowen G.S. and Sather, G.: Epidemic Venezuelan equine encephalitis in North America in 1971: Vertebrate field studies. Am. J. Epidemiol., 101::36-50, 1975b.

Taylor, W.M. and Buff, E.: Transmissibility of an attenuated Venezuelan equine encephalomyelitis vaccine virus. J. Am. Vet. Med. Assoc., 161:159-163, 1972.

Walton, T.E., Brautigam, F.E., Ferrer, J.A. and Johnson K.M.: Epizootic Venezuelan equine encephalomyelitis in Central America. Disease pattern and vaccine evaluation in Nicaragua, 1969-1970. Am. J. Epidemiol., 95:247-254, 1972.

Walton, T.E. and Johnson, K.M.: Experimental Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection of the bovine. Infect. Immun., 5:155-159, 1972.

CUADRO 1. TÍTULOS DE ANTICUERPOS IH (A) CONTRA LOS ANTÍGENOS TC-83 Y 63U2 EN SUEROS DE BOVINOS DE UNA ÁREA ENZOÓTICA PARA LA EEV (HUIXTLA, CHIAPAS)

Edad de los bovinos	Número de animales	Antígenos													
		TC-83							63U2						
		40 (b)	80	160	320	640	%	40	80	160	320	640	%		
< 2 años	61	10	11	4	2	-	52.9	12	12	6	1	2	64.7		
> 2 años (c)	27	6	5	3	2	1	63.0	9	4	6	1	2	81.5		

- a) Recíproca de la dilución máxima del suero que inhibía la hemaglutinación.
- b) Título IH. Se consideró positivo a un suero cuando inhibía la hemaglutinación desde una dilución de 1:40 en adelante.
- c) Uno de los animales fue positivo a EEE y dos a EEO.

CUADRO 2. TÍTULOS IH DEMOSTRADOS EN LOS SUEROS DE BOVINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON VIRUS DE LA EEV CEPA VACUNAL TC-83

Lote	Título DL 50/r/i/c/ml	Días en que se obtuvieron sueros y título de inhibición de la hemaglutinación					
		0-5	6	7	15	30	60
I	10 ⁸	-	-	10 (b)	20	10	-
	10 ^{7.3}	-	-	10	20	20	20
	10 ^{7.3}	-	-	10	-	10	-
	10 ^{7.3}	-	-	10	10	10	-
II	10 ⁷	-	-	-	-	10	-
	10 ⁷	-	-	-	-	10	-
	10 ⁷	-	10	40	40	40	20
	10 ⁷	-	10	40	10	10	-
III	10 ⁶	-	-	-	10	10	-
	10 ⁶	-	-	-	10	-	-
	10 ⁶	-	-	-	-	-	-
	10 ⁶	-	-	-	-	-	-
IV	Testigo	-	-	-	-	-	-
	Testigo	-	-	-	-	-	-
	Testigo	-	-	-	-	-	-
	Testigo	-	-	-	-	-	-

VIII. INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE DOS ESPECIES DE MOSQUITOS CON LA CEPA VACUNAL TC-83

Carlos Ramón Bautista Garfias, Samuel Mercado Sánchez, Antonio Morilla González

A. Introducción.....	168
B. Material y Métodos	169
C. Resultados	170
C. Discusión	170
Referencias	171

A. INTRODUCCIÓN

La patogenicidad del virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) para los equinos y animales de laboratorio, ha sido modificada a través de pases seriados en cultivos primarios de corazón de cuye fetal, obteniéndose la cepa TC-83 (Berge *et al.*, 1961). Esta, se utiliza para la vacunación de equinos en áreas enzoóticas de Latinoamérica; sin embargo, existe la posibilidad de que el virus vacunal pudiera infectar mosquitos y estos a su vez difundirlo en la naturaleza.

Bajo condiciones de laboratorio, se ha podido infectar a los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes triseriatus* con la cepa TC-83 del virus de la EEV (Schaffer y Scherer, 1971, 1974). En condiciones de campo se ha podido aislar la cepa TC-83 a partir de mosquitos *Psorophora confinnis* (Pedersen et al., 1971). Sin embargo, otros investigadores no han sido capaces de aislar el virus vacunal de mosquitos que viven en áreas en las que los equinos han sido vacunados previamente, lo cual sugiere que el título de la viremia en estos vertebrados era demasiado bajo como para infectar mosquitos (McConell, 1971; Walton *et al.*, 1972).

El presente estudio se llevó a cabo con el objeto de: 1) determinar si los mosquitos *Anopheles albimanus* y *Culex thriambus* pueden ser infectados experimentalmente con la cepa TC-83 del virus de la EEV y 2) si éstos, una vez infectados, son capaces de transmitirla por diferentes métodos a ratones lactantes.

B. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó la cepa TC-83, pase 85, del virus de la EEV en cultivo primario de corazón de cuye fetal, con un título de 10^8 LD₅₀ /ratón lactante/intracerebral/mililitro (LD₅₀/rl/ic/ml).

Los mosquitos *Anopheles albimanus* se obtuvieron de una colonia en el laboratorio. Los mosquitos *Culex thriambus* se colectaron en estadio pupal de los alrededores del CENID-Microbiología en México, D.F. y se mantuvieron en el laboratorio hasta que alcanzaron el estadio de imago.

En un primer experimento, a mosquitos *An. albimanus* se les permitió alimentarse durante 30 minutos sobre ratones lactantes previamente inoculados con la cepa TC-83 del virus de la EEV. Estos roedores mostraban signos clínicos de encefalitis y tenían una viremia con un título de $10^{7.2}$ LD₅₀/rl/ic/ml. Después de que se alimentaron, los mosquitos fueron separados en vasos de cartón encerado y se mantuvieron a una temperatura de 28 C con una humedad relativa (HR) de 70-80%. Durante el período extrínseco de incubación los mosquitos fueron alimentados diariamente con un algodón saturado con una solución estéril de azúcar al 5%. A los 0,3,7,8,9,10,11,12 y 13 días postinfección, grupos de 3 a 7 mosquitos fueron macerados en un mortero con diluyente preparado con solución salina balanceada de Hank (HBSS), suero normal descomplementado de conejo al 25%, 1.6 mg de estreptomina y 1,000 UI de penicilina por ml, de acuerdo a Sudia y Chamberlain (1967). Las suspensiones fueron centrifugadas a 1,700 x g por 30 min a 4 C y el sobrenadante se inoculó por vía IC a ratones lactantes de 1 a 3 días de edad. Aquellos inóculos en los cuales se detectó virus fueron titulados por vía IC en ratones lactantes de acuerdo al método de Reed y Muench (1938).

En un segundo experimento, los mosquitos que habían sido infectados 10, 11, 12 y 13 días antes, se les permitió alimentarse por 30 min en ratones lactantes normales de 1 a 3 días de edad. La transmisión del virus por medio de los mosquitos en los ratones fue confirmada por medio de una prueba de neutralización del virus aislado en los ratones, usando un suero hiperinmune preparado en conejo con un título de inhibición de la hemaglutinación de 1:640.

En el tercer experimento, mosquitos *Culex thriambus* fueron anestesiados al someterlos a -20 C por 5 minutos para luego inocularlos por vía poro intratorácica con aproximadamente 0.001 ml de una suspensión del virus con un título de 10^5 LD₅₀/rl/ic/ml. La inoculación se llevó a cabo con una microjeringa estéril hecha de un tubo capilar, de acuerdo a la técnica descrita por Rosen y Gubler (1974). Los mosquitos inoculados fueron separados en vasos de cartón encerado y

mantenidos a una temperatura de 28 C con una humedad relativa de 70-80%. Estos, fueron alimentados diariamente con una solución estéril de azúcar al 5%. Se prepararon suspensiones de mosquitos 16, 23, 26, 36 y 43 días después de la inoculación y se titularon en ratones lactantes como se describió anteriormente.

C. RESULTADOS

En el primer experimento, la mayoría de los mosquitos se infectó al alimentarse en ratones con un título viral en la sangre de $10^{7.2}$ LD₅₀/rl/ic/ml. El título promedio de virus por mosquito, expresado como LD₅₀/rl/ic/ml fue como sigue: a los 0 días, el virus fue detectado pero no fue titulado; tres días después de la infección no fue posible aislar virus; a los siete días el título fue $10^{3.3}$; a los ocho días, $10^{4.3}$; a los nueve días, $10^{4.3}$; a los 10 días $10^{7.3}$; a los 11 días, $10^{5.2}$; a los 12 días, $10^{3.9}$ y a los 13 días el título viral fue de $10^{4.2}$ (Cuadro 1)

En el segundo experimento, los mosquitos que fueron expuestos 10 días antes a la infección fueron capaces de transmitir el virus a un ratón lactante de seis expuestos. El animal murió al quinto día de la exposición; el virus pudo ser aislado y neutralizado con un antisuero específico contra EEV (Cuadro 2).

En el tercer experimento, la inoculación intratorácica de *Culex thriambus* fue exitosa. Los títulos promedio por mosquito, expresados en LD₅₀/rl/ic/ml fueron los siguientes: al día 16 postinoculación, $10^{5.9}$; a los 23 días, 10^8 ; a los 26 días, $10^{6.3}$; a los 36 días, $10^{7.7}$ y a los 43 días, $10^{4.9}$ (Cuadro 3).

D. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados, la cepa TC-83 del virus de la EEV es capaz de infectar fácilmente mosquitos de las especies *An. albimanus* y *Cx. thriambus*. En este sentido, la patogenicidad del virus de la EEV ha sido modificada para los equinos y animales de laboratorio, pero retiene la capacidad para infectar y crecer en mosquitos como también ha sido demostrado en mosquitos *Aedes aegypti* y *Ae. triseriatus* (Scherer, 1971, 1974). El crecimiento del virus siguió el patrón de otros Togavirus del Grupo A. En los experimentos de transmisión fue notorio que en un caso la transmisión fue exitosa y solamente en un animal. El título viral alcanzado por los mosquitos de ese grupo fue alto cuando se comparó con el de los que fueron incapaces de transmitir el virus. Estos resultados son similares a los de otros estudios en los que mosquitos *An. albimanus* fueron infectados fácilmente con otros arbovirus; sin embargo, la habilidad de transmisión en esta especie fue baja (Collins *et al.*, 1963, 1965; Collins y Harrison, 1966). Para asegurar que los mosquitos transmitieron el virus de EEV a los ratones lactantes,

se llevó a cabo una prueba de neutralización con el virus aislado y además se dió un segundo pase, confirmando los resultados.

El título de la viremia en los ratones lactantes inoculados fue $10^{7.2}$ LD₅₀/rl/ic/ml, el cual fue suficiente para infectar exitosamente a los mosquitos. Generalmente los títulos de viremia alcanzados en caballos vacunados es de $10^{1.9}$ LD₅₀/rl/ic/ml el cual es insuficiente para infectar mosquitos *Aedes triseriatus* (Sudia *et al.*, 1971). En la naturaleza, solamente en una ocasión la cepa TC-83 ha sido aislada de mosquitos *Psorophora confinnis* (Pedersen *et al.*, 1971), indicando que el umbral del título de viremia para la infección de mosquitos varía de acuerdo a la especie. Por lo tanto, existe la posibilidad de que los mosquitos *An. albimanus* y *Cx. thriambus* puedan infectarse a partir de caballos vacunados. Este es un tema que requiere más investigación. La posibilidad de que los mosquitos puedan infectarse con la cepa TC-83 bajo condiciones de campo y difundan el virus en la naturaleza debe ser considerada seriamente. Esto es importante, debido a que de tiempo en tiempo se llevan a cabo campañas de vacunación contra EEV, como el caso de México (Comité de Enfermedades Infecciosas de los Equinos, 1994) y es necesario asegurarse de que el virus vacunal no se está difundiendo en la naturaleza. Sin embargo, no hay indicación de que el virus se esté difundiendo a otras especies de animales domésticos (McConell 1971, Walton *et al.*, 1972; Gallo *et al.*, 1979).

REFERENCIAS

Berge T.O., Banks I. and Tigett W.D.: Attenuation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by in vitro cultivation in guinea pig heart cells. *Am. J. Hyg.*, 73: 209-218, 1961.

Collins W.E., Westbrook J.R., and Chester L.E.: Studies on the transmission of Semliki Forest virus by anopheline mosquitoes. *Am. J. Hyg.*, 77: 109-113, 1963.

Collins W.E., Harrison A.J. and Jumper J.R.: Infection and transmission studies with Eastern encephalitis virus and *Anopheles albimanus* and *Anopheles quadrimaculatus*. *Mosquito News*, 25: 296-300, 1965.

Collins W.E. and Harrison A.J.: Studies of Sindbis virus in *Anopheles albimanus* and *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, 26: 91-93, 1966.

Comité de Enfermedades Infecciosas de los Equinos.: México, país libre de la Encefalitis equina venezolana. Memoria de la Tercera Reunión Anual del Consejo Técnico Consultivo Nacional de Sanidad Animal. Acapulco, Guerrero., México. Octubre 10-14.pp. 87-99, 1994.

Gallo de la Torre M., Zárate M.L., Bautista G. C.R., Rosales O. C. y Morilla G. A.: Evaluación de la respuesta serológica de los bovinos al virus de la Encefalitis equina venezolana infectados en forma natural y experimental. Bol. Of. Sanit. Panam., 86:10-19, 1979.

McConnell S.: Desarrollo y control de las vacunas a virus vivo modificado para el control de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV). En: Informe de la Mesa Redonda Internacional sobre Encefalitis Equina tipo Venezuela. SAG/OPS, 12-14 de Mayo de 1971, México.

Pedersen C.E.Jr, Robinson D.M. and Cole F.E.Jr.: Isolation of the vaccine strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from mosquitoes in Louisiana. Am. J. Epidem, 95: 490-496, 1971.

Reed L.J. and Muench H.A.: A simple method of estimating fifty per cent end points. Am. J. Hyg., 27: 493-497, 1938.

Rosen L. and Gubler D.: The use of mosquitoes to detect and propagate dengue viruses. Am. J. Trop. Med. Hyg., 23: 1153-1160, 1974.

Schaffer P.A. and Scherer W.F.: Stability of virulence and plaque size of Venezuelan encephalitis virus passage in mosquitoes (*Aedes aegypti*). Am. J. Epidem., 93: 68-74, 1971.

Schaffer P.A. and Scherer W.F.: Growth of Venezuelan encephalitis virus and disappearance of Coxsackie A, Rous Sarcoma, Herpes Simplex and Vaccinia viruses following inoculation of *Aedes aegypti* and other mosquitoes. J. Med. Ent., 11: 189-196, 1974.

Sudia W.D. and Chamberlain R.W.: Collection and processing of medically important arthropods for arbovirus isolation. USDHEW, PHS, CDC, Atlanta, Georgia, USA, 1967.

Sudia W.D., Newhouse V.F. and Henderson B.E.: Experimental infection of horses with three strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. II. Experimental vector studies. Am. J. Epidem., 93: 206-211, 1971.

Walton T.E., Brautigam F.E., Ferrer J.A. and Johnson K.M.: Epizootic Venezuelan equine encephalomyelitis in Central America: Disease Pattern and vaccine evaluation in Nicaragua, 1969-1970. Am. J. Epidem., 95: 247-254, 1972.

CUADRO 1. INFECTIVIDAD DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA, CEPA TC-83, PARA MOSQUITOS *Anopheles albimanus*

Día postinfección ^a	No. de mosquitos en cada grupo	Virus en la mezcla de mosquitos	Título promedio por mosquito ^b
0	7	si	ND ^c
3	6	-	..
7	5	si	10 ^{3.3}
8	5	si	10 ^{4.3}
9	4	si	10 ^{4.3}
10	5	si	10 ^{7.3}
11	4	si	10 ^{6.2}
12	6	si	10 ^{3.9}
13	3	si	10 ^{4.2}

^a Los mosquitos fueron infectados permitiéndoles alimentarse por 30 min. en ratones lactantes inoculados. Los mosquitos fueron separados y mantenidos a 28C con una humedad relativa de 70-80%.

^b Título del virus expresado como LD₅₀/rl/ic/ml

^c No determinado.

CUADRO 2. TRANSMISIÓN DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA, CEPA TC-83, DE MOSQUITOS *Anopheles albimanus* A RATONES LACTANTES

Día postinfección ^a	No. de mosquitos en cada grupo	Ratones muertos/ratones expuestos	Virus en la mezcla de mosquitos	Título promedio de virus por mosquito ^d
10	5	1/6 ^{b,c}	si	10 ^{7.3}
11	4	0/6	si	10 ^{6.2}
12	6	0/6	si	10 ^{3.9}
13	3	0/6	si	10 ^{4.2}

^a Los mosquitos fueron infectados permitiéndoles alimentarse por 30 min. en ratones lactantes inoculados. Los mosquitos fueron separados y mantenidos a 28 C y una humedad relativa de 70-80%.

^b Ratones lactantes normales fueron expuestos permitiendo que el grupo de mosquitos se alimentara en ellos por 30 min. Todos los mosquitos obtuvieron sangre de cuando menos dos de los seis ratones expuestos.

^c Virus de la EEV demostrado identificado por neutralización con suero hiperinmune.

^d Título del virus expresado como LD50/rl/ic/ml

CUADRO 3. INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE MOSQUITOS *Culex thriambus* CON VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA, CEPA TC-83, POR MEDIO DE INOCULACIÓN INTRATORÁCICA

No. de mosquitos inoculados ^a	Días postinoculación	Virus en la mezcla de mosquitos	Título promedio de virus por mosquito ^b
6	16	si	10 ^{6.9}
1	23	si	10 ⁸
3	26	si	10 ^{6.3}
2	36	si	10 ^{7.7}
1	43	si	10 ^{4.9}

^a-Los mosquitos fueron anestesiados a -20C por 5 min. e inoculados por vía intratorácica con una microaguja, con aproximadamente 0.001 ml de virus con un título de 10⁵ LD₅₀/rl/ic/ml.

^b Título del virus expresado como LD₅₀/rl/ic/ml.

IX. CIRCULACIÓN DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA DESPUÉS DE 20 AÑOS DE SILENCIO EN TABASCO, MÉXICO, 1991

María Luisa Zárate Aquino, José Luis Valdespino Gómez, Verónica Rivero Leal, Guillermina Madrigal Ayala

A. Introducción	175
B. Material y métodos	177
C. Resultados serológicos	179
D. Resultados virológicos	180
E. Discusión	180
F. Conclusiones	182
Referencias	183

A. INTRODUCCIÓN

Se conoció de la actividad del virus de la encefalitis equina venezolana (EEV) en México desde 1962, cuando ocurrió un brote de encefalitis en seres humanos en Champotón, Campeche, en el sureste del país. Posteriormente el virus (cepa prototipo 63U2) fue aislado en 1963 a partir de hámsters centinelas de una amplia zona de la costa del Golfo de México; se recuperaron cepas virales durante estudios de campo realizados en las zonas costeras bajas del Golfo de México desde Yucatán hasta Tampico, Tamaulipas y parte del Pacífico y se identificó su circulación en forma silenciosa entre especies silvestres de mamíferos terrestres y aéreos, aves locales y migratorias, en animales domésticos, en menor proporción en los seres humanos y en una amplia gama de vectores artrópodos hematófagos. El virus circuló en forma endémica encontrándose índices de seropositividad variables en equinos, porcinos, aves y seres humanos.

Se localizaron dos brotes, uno en Champotón en seres humanos y el otro en Tampico en equinos, los que se autolimitaron cuando cambió la estación. El último estuvo asociado con la presencia de sobrepoblación de ratas cañeras y una temporada de lluvias intensas que determinó extensas inundaciones previas al brote (3). La trascendencia que tuvo la actividad de este virus en los seres humanos se tradujo en índices variables de seropositividad en pobladores del Golfo de México y cuando se buscó en forma intencionada con casos de encefalitis, se descubrió un caso fatal en un residente de Jaltipan, Veracruz (4,5). Todo este tiempo, las cepas aisladas fueron del tipo IE.

La variante epizootica del virus se considero propia de Sudamerica, pero en 1969 se inicio un desplazamiento ascendente en el continente que termino hasta 1972. En 1970 los extensos brotes alcanzaron a nuestro pais desde Chiapas en la frontera con Guatemala, en forma explosiva, hasta la frontera norte con los Estados Unidos, afectando en forma severa a los equinos y a numerosos seres humanos.

En esta ocasion el virus abandono las tierras bajas de menos de 200 msnm, humedas tropicales, se extendio por todo el pais a favor de cuencas, vertientes y rutas de comunicacion, llegando a Texas y a la cuenca del Rio Bravo, hasta que el 19 de septiembre de 1972 se reporto el ultimo brote en las Islas Marfas.

Afecto preferentemente a equinos, con una alta mortalidad y a otras especies de animales, y aparentemente en menor proporcion a los seres humanos en los que se describieron desde cuadros febriles, hasta cuadros de franca encefalitis. La cepa viral aislada correspondio al grupo IB. El control de la enfermedad se alcanzo desde entonces debido a las campanas de vacunacion en equinos, las que desafortunadamente con el paso de los años paulatinamente han disminuido.

De septiembre de 1972 a enero de 1991 no hubo reportes de actividad de EEV en equinos o en seres humanos. A finales de la década de los ochentas se tuvo conocimiento de algunas muertes de equinos en la zona de la península de Yucatán sin que se hayan podido asociar por laboratorio, en forma definitiva con el virus de la EEV.

El laboratorio de Arbovirus del Departamento de Virología Diagnóstica del ISET/INDRE de la SSA (datos publicados en los informes anuales), mantuvo desde 1973 una estrecha vigilancia serológica de la actividad del virus de la EEV investigando anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) en todos los sueros de casos febriles que llegaron para diagnóstico de arbovirosis (encefalitis y Dengue). Se estudiaron anualmente miles de sueros procedentes de 29 entidades federativas. En 1989 se encontró positividad en el 0.9% de 4116 sueros investigados y para 1990 el 2.4% de 1946 sueros, todos con títulos bajos (1:10 a 1:40) y en personas de más de 20 años de edad.

En 1991 únicamente se encontró positividad en muestras procedentes del estado de Tabasco, con una distribución en edad y con títulos serológicos tales que determinaron el trabajo, que a continuación se describe, desarrollado de enero a abril de 1991.

Se trató de dos menores de 5 y 7 años de edad respectivamente, residentes de dos poblados, Villa La Venta y Paraíso en Tabasco, que cursaron con cuadros febriles severos, sin exantema en los que se sospechó Dengue clásico. En el laboratorio se recibieron muestras séricas pares de estos casos y no se demostró infección reciente de Dengue, pero todos los sueros mostraron anticuerpos para el virus de la EEV con títulos compatibles con infección pasada reciente para uno y actual para el otro (Cuadro 1).

El hallazgo fue indicativo de actividad reciente del virus de la EEV en grupos humanos, después de cerca de 20 años de silencio, por lo que se procedió a hacer un estudio entomológico y seroepidemiológico para determinar:

- a) La trascendencia de la actividad que este virus pudiera tener en ese momento en la población humana de esas comunidades
- b) Ubicar la localización geográfica del problema
- c) Determinar las especies animales domésticas que pudieran estar incluidas en el ciclo de transmisión y amplificación del virus
- d) Determinar las especies vectoras hematófagas involucradas en su transmisión
- e) Definir las medidas de vigilancia de la actividad de este virus que se debieran tomar en la región.

B. MATERIAL Y MÉTODOS

Moscas

Se procedió a capturar moscos tanto en Villa La Venta como en Paraíso, con cebo humano y con trampas de luz. Fueron clasificados por especie, se conformaron lotes de uno a 25 moscos y se conservaron en congelación hasta que se procedió a su inoculación en ratón lactante.

Los ratones inoculados fueron observados hasta 21 días. De los que enfermaron o murieron, se prepararon macerados de cerebro que fueron inoculados en otros ratones para preparar antígenos hemaglutinantes. De los ratones sobrevivientes se obtuvieron sueros sanguíneos para investigar por IH anticuerpos contra alfa y flavivirus.

Sueros humanos

El personal de los Centros de Salud de los dos poblados, por invitación del laboratorio, colectó sueros sanguíneos de residentes de 3 a 70 años de edad, los que fueron remitidos para su estudio. Un grupo de expertos se trasladó a Paraíso y colectó muestras séricas en tres grupos de personas residentes, en zonas denominadas de "alto", "mediano" y "bajo" riesgo dependiendo de la cercanía con la residencia del caso índice y del río de la localidad. Fue un muestreo aleatorio, representativo de la comunidad.

Fueron incluidos como control, sueros del personal del Departamento de Virología Diagnóstica con y sin antecedente vacunal con cepa TC-83 y una con antecedente de infección previa con el virus 63U2.

Sueros animales

En las zonas en las que se dividió el poblado Paraíso se tomaron muestras de sangre de cerdos, perros y aves de corral. Del rastro del poblado fueron colectadas muestras de bovinos y sólo se obtuvieron cuatro muestras de equinos provenientes de La Venta.

Virus

Antígenos IH de referencia, cepas virales enzoóticas y vacunal donados por los CDC de Atlanta, Georgia, de los Laboratorios de YARU en New Haven, Connecticut y de Fort Collins, Colorado, de los Estados Unidos de América.

Antisueros/anticuerpos monoclonales

Se utilizaron los antisueros específicos contra el virus EEV vacunal y de referencia para cepas silvestres enzootómicas y epizootómicas. También para EEE, EEO, ESL y monoclonales de las mismas fuentes.

Técnicas empleadas

Inhibición la hemoaglutinación (IH). Se siguió la técnica de Clark y Casals en microplaca con 8-16 unidades HA.

Neutralización. Se neutralizaron los virus aislados con antisueros conocidos y se inocularon en ratón lactante, en ratón de destete y en adulto por vía intracraneal, peritoneal y subcutánea respectivamente.

C. RESULTADOS SEROLÓGICOS.

La reactividad hacia el virus de la EEV encontrados en los dos primeros casos estudiados dió lugar a un estudio serológico en ambas localidades (Cuadro 1). De La Venta se recibieron 65 sueros de humanos y 4 de equinos. En Paraíso se obtuvo un total de 394 muestras de sueros de humanos y 73 de varias especies de animales domésticos, colectadas en viviendas ubicadas alrededor del caso índice (zona de alto riesgo) y de viviendas en zona de mediano y bajo riesgo de transmisión.

Por IH se encontró para el virus de la EEV en sueros de humanos de las zonas de alto, mediano y bajo riesgo, un 21.6, 16.6 y 11.1% de seropositividad respectivamente, con títulos que oscilaron de 1:10 a 1:2,560. La seropositividad en el grupo de menores de 11 años de edad fue del 12.2, 3.5 y 5.2% respectivamente (Cuadro 2).

La positividad general del grupo estudiado fue del 19.3%, dato superior al encontrado para todo el país en años anteriores, con títulos muy por encima de lo acostumbrado y siendo afectados menores de 20 años.

En los sueros de animales procedentes de Paraíso, en la zona de alto riesgo, 4 de 20 animales estudiados fueron positivos siendo los cánidos los de más alta positividad. En la zona de bajo riesgo, de 20 animales estudiados, cuatro fueron positivos siendo una ave la de mayor positividad. De 33 animales estudiados en el rastro, 4 de 11 (36.4%) porcinos y 19 de 22 (86.4%) bovinos fueron positivos (Cuadro 3). La seropositividad en estas especies animales ha sido descrita ampliamente en la literatura (1,2).

De La Venta se recibieron 4 sueros de equinos menores de un año de edad y sin antecedente vacunal. Los cuatro fueron positivos (Cuadro 3).

De La Venta se recibieron 65 sueros de humanos en los que se encontró una seropositividad general del 70.8% En el grupo de 1-10 años de edad, 11 de 16 sueros (68.7%) fueron positivos con títulos de hasta 1:320, indicativo de infección muy reciente. En el siguiente grupo de edad, de 11 a 20 años, el 88.8% de los individuos estudiados fueron positivos y a partir de los 21 años de edad, la totalidad de los individuos estudiados fueron positivos indicativo de una amplia circulación del virus dentro de la comunidad de seres humanos, en su mayoría dedicados a labores del campo (Cuadro 4).

D. RESULTADOS VIROLÓGICOS

En 12 de los 21 lotes de mosquitos inoculados en ratón lactante se presentó enfermedad o muerte en uno o más ratones después de 30 hrs hasta 12 días post inoculación. La inoculación en un segundo pase produjo la muerte en el 100 % de animales y sirvió para preparar antígeno HA y semilla para pruebas de neutralización.

Para conocer la relación antigénica del aislamiento de Tabasco (TAB91), se hicieron pruebas de neutralización en ratón lactante contra tres anticuerpos monoclonales: a) 5B4D-6 del virus vacunal EEV, con proteína específica E2, b) 1A3A-5 y c) 1A1B-9 del virus EEV endémico con proteína específica E2. Fueron retados en forma cruzada, contra virus homólogos y heterólogos previamente titulados en el laboratorio. Este material fue amablemente proporcionado por el Dr. D.J. Gubler de Fort Collins, Colorado, Estados Unidos (Cuadro 5).

E. DISCUSIÓN

Desde 1980 cuando comenzó a circular el virus de Dengue en el país, se recibieron muestras procedentes del Estado de Tabasco y de entidades vecinas para su confirmación diagnóstica. En todos los sueros se investigó la presencia de anticuerpos para alfavirus, con resultados hasta ese momento negativos. El haber encontrado en 1991 estos dos casos de infección reciente por EEV en menores de 5 y 7 años de edad, sugirió que hubo una circulación muy reciente del virus en la zona costera del estado de Tabasco. Además, la presencia de anticuerpos en menores de 20 años, confirmó que la circulación del virus era muy reciente y que se había desarrollado posteriormente al brote que cesó en 1972. Esto había ocurrido en el curso de los últimos meses, en forma silenciosa afectando en forma considerable a los seres humanos en los que había producido manifestaciones febriles, que como fue el caso índice habían sido confundidos clínicamente con otro padecimiento común en la región como era el Dengue.

La seropositividad en el 100% de los individuos estudiados de más de 20 años en La Venta, hizo pensar que el problema era más antiguo en este poblado y que se estaba extendiendo hacia el área de Paraíso, por medio de vectores, reservorios y amplificadores naturales.

La importante afectación de los seres humanos sobre los animales de la zona hizo pensar en la posibilidad de que un vector antropófilo estaba transmitiendo el virus en las comunidades como se había demostrado en otras partes de América del Sur.

En la epizootiología de la EEV existen animales reservorios y amplificadores que ayudan a su mantenimiento en la naturaleza, estando involucrados gran cantidad de aves y mamíferos domésticos y silvestres, constituyendo un ciclo biológico complejo y difícil de determinar. En los últimos años se ha sospechado que los bovinos puedan actuar como reservorios y amplificadores, pues en zonas endémicas una gran proporción de ellos muestran anticuerpos específicos, que pueden ser provocados ya sea por cepas de virus silvestre o incluso vacunal.

Dado el número de bovinos existentes en esa zona del país que predomina sobre el de los equinos, su distribución alrededor de los poblados y la estrecha relación que tienen con los seres humanos en las zonas enzoóticas de la EEV, hace importante el papel que puedan éstos jugar en la epizootiología de la EEV.

Uno de los últimos reportes que se tuvo de circulación del virus en esa área geográfica data de fines de 1974 a 1975, cuando se reportó un brote de EEV en Guatemala, en la frontera con Chiapas.

Es muy probable que estos virus hayan permanecido circulando en forma restringida en nichos ecológicos silvestres durante años, sin afectar a las comunidades humanas ni a sus animales domésticos y en completo equilibrio. Cuando las condiciones ecológicas de alguna forma se alteraron, determinaron que se exacerbara la actividad viral y que saliera de sus nichos naturales, alcanzando a una amplia zona de esa región de México. Además, alcanzó a los animales domésticos, a los mosquitos antropófilos y por tanto a los seres humanos. La afectación aunque amplia, como lo demuestra la encuesta serológica en La Venta, ha causado infecciones que han cursado en forma "benigna", produciendo cuadros que se confunden con otros padecimientos febriles y exantemáticos frecuentes en esas comunidades.

Aunque se identificaron reportes de casos recientes de encefalitis en el Hospital Infantil de Villahermosa, no fue posible encontrar a los niños que en ese momento ya habían sido dados de alta, para toma de muestras séricas que sirvieran para definir la posible asociación con EEV.

Es probable que la EEV no se hubiera manifestado en el país como epizootia para 1991, debido a que los equinos se han seguido vacunando y existe una suficiente inmunidad de hato, además de que la proporción de equinos es muy baja en la zona.

F. CONCLUSIONES

A raíz del hallazgo de la seropositividad por IH para el virus de la EEV en dos menores de edad, se iniciaron estudios dirigidos a establecer la extensión de la enfermedad en esa región en los seres humanos y en sus animales domésticos. Es probable que a partir de fecha muy reciente los bovinos al igual que otros animales y seres humanos se hayan visto infectados en forma silenciosa con el virus y probablemente hayan actuado como amplificadores. Esto estaba ocurriendo por infección con un virus silvestre, ya que el vacunal no provoca manifestaciones clínicas y no llega a producir viremia ni respuestas serológica a títulos tan elevados.

Se pudo demostrar en este estudio que los seres humanos para 1991 habían comenzado a ser afectados en mayor proporción y gravedad que lo fueron probablemente en el pasado. La complicación neurológica para este tipo de cepa viral no es remota como lo demostró el caso comprobado en Jaltipan, Veracruz en 1970 (5).

Durante la visita en meses de sequía a Paraíso se encontró muy disminuido el número de mosquitos y de criaderos, debido a que las temperaturas ambientales eran de alrededor de 45 C lo que mantenía muy alta la temperatura del agua encontrada en contenedores ambientales naturales y mataba a las larvas.

Dada la edad de los seres humanos identificados como casos índice, de la edad de los bovinos y de las otras especies animales estudiadas, en los que se descubrió la existencia de anticuerpos, así como los niveles de los mismos demostrados por IH contra el virus de la EEV en una área extensa del estado de Tabasco, se pudo comprobar ampliamente por laboratorio, que en esta zona del país en 1991 existió circulación reciente de EEV, después de cerca de 20 años de baja o ninguna actividad demostrada.

Este hallazgo apoyó el establecimiento de actividades de monitoreo, vigilancia y búsqueda intencionada de casos sospechosos de encefalitis en seres humanos y en animales, por parte del personal de la salud, de aplicación de vacunas en equinos y del informe inmediato de la ocurrencia de brotes particularmente en el sudeste del país. Este hallazgo demostró que existen condiciones adecuadas para que los virus del complejo EEV reinicien su circulación y lo hagan ampliamente, afectando a la población humana y a diversas especies de animales domésticos, que actúan como reservorios y amplificadores de estos virus.

REFERENCIAS

1. Dickerman, R.W., Baker, G.J., Ordoñez, J.V., and Scherer, W.F. Venezuelan equine encephalomyelitis viremia and antibody responses of pigs and cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 34: 357-361, 1973.
2. Gallo de la Torre, M., Bautista, C.R.G., Zárate, M.L., Rosales, C. y Morilla, A. Evaluación de la respuesta serológica de los bovinos al virus de la encefalitis equina venezolana infectados en forma natural y experimental. *Bol. Of. Panam.*, 86: 10-19, 1979.
3. Morilla-González, A. y De Mucha-Macías, J.: Estudio de una epizootia de Encefalitis Equina de Venezuela ocurrida en Tamaulipas, Méx. *Rev. Invest. Salud Públ. (Méx.)*, 29: 3-20, 1969.
4. Scherer, W.F., Campillo-Saíñz, C., De Mucha-Macías, J., Dickerman, R.W., Wong-Chía, C., and Zárate, M.L. Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern, México. VII. Infection of man. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21:79-85, 1972.
5. Zárate, M.L., Scherer, W.F. y Dickerman, R.W. Un caso probable de Encefalitis Equina Venezolana ocurrido en Jaltipan, Veracruz, México, 1965. *Salud Pública Mex.*, 13: 97-99, 1971.

CUADRO 1. TÍTULOS DE ANTICUERPOS IH PARA EEV Y DEN-1 DE DOS CASOS FEBRILES RESIDENTES DE PARAÍSO Y LA VENTA, TABASCO, MÉXICO, 1991

LOCALIDAD	CASO	EDAD (AÑOS)	MUESTRA	TÍTULO IH* CONTRA:	
				EEV	DEN-1
Paraíso	1	5	1a	80	10
			2a.	320	10
La Venta	2	7	1a.	40	640
			2a.	40	640

(*) Contra 8-16 unidades hemaglutinantes de cada antígeno

CUADRO 2. SEROPOSITIVIDAD PARA EEV EN SUEROS HUMANOS RESIDENTES EN ÁREAS DE BAJO, MEDIANO Y ALTO RIESGO EN PARAÍSO, TABASCO, 1991

EDAD	ALTO RIESGO			MEDIANO RIESGO			BAJO RIESGO			TOTALES		
	No.	+(a)	% (b)	No.	+	%	No.	+	%	No.	+	%
1-10	82	10	12.2	28	1	3.5	19	1	5.2	129	12	9.3
11-20	41	4	9.7	16	1	6.3	12	3	25.0	69	8	11.6
21-30	32	10	31.1	8	2	25.0	7	1	14.3	47	13	27.6
31-40	30	10	33.3	7	2	28.6	2	0	0	39	12	30.7
41-50	10	5	50.0	7	4	57.1	1	0	0	18	9	50.0
51-60	8	3	37.5	1	0	0	1	0	0	10	3	30.0
61-70	4	3	75.0	3	2	66.1	3	1	33.0	10	6	60.0
71-75	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0
SD	61	13	21.3	0	0	0	9	0	0	70	13	18.6
Total	268	58	21.6	72	12	16.6	54	6	11.5	394	76	19.3

a) Positivos con títulos de 1:10 hasta > 1:640

b) Porcentaje de positivos

SD = Sin datos

CUADRO 3. SEROPOSITIVIDAD PARA EEV EN SUEROS DE ANIMALES PROCEDENTES DE PARAÍSO Y LA VENTA, TABASCO, 1991

LOCALIDAD	ESPECIE	NÚMERO ESTUDIADO	POSITIVOS POR IH* (1:10 - 1:320)	POSITIVOS %
Paraíso	Felinos	1	0	0
	Caninos	15	5	33.3
	Aves de corral	24	3	12.5
	Porcinos	11	4	36.4
	Bovinos	22	19	86.4
	Total	73	31	42.5
La Venta	Equinos	4	4	100.0

CUADRO 4. SEROPOSITIVIDAD PARA EEV EN SUEROS DE PERSONAS RESIDENTES DE LA VENTA, TABASCO, 1991

GRUPO DE EDAD AÑOS	NÚMERO ESTUDIADO	POSITIVOS POR IH* (1:10 - 1:320)	POSITIVOS %
1-10	16	11	68.7
11-20	9	8	88.8
21-30	7	7	100.0
31-40	4	4	100.0
41-50	2	2	100.0
51-60	1	1	100.0
61-70	1	1	100.0
sin datos	25	12	48.0
Total	65	46	70.8

(*) Contra 8-16 unidades hemaglutinantes del antígeno

CUADRO 5. GRADO DE NEUTRALIZACIÓN ENCONTRADA ENTRE MONOCLONALES CONTRA VIRUS DEL COMPLEJO EEV Y LA CEPA VIRAL AISLADA EN TABASCO, MÉXICO 1991

MONOCLONAL a	TIPO	VIRUS EN RETO	NEUTRALIZA (LOGARITMOS) b
5B4D-6	Vacunal	TC-83	2.9
		63U2	0.7
		TAB91	0.3
1A3A-5	Endémico	TC-83	0.3
		63U2	4.0
		TAB91	3.5
1A1B-9	Endémico	TC-83	0.4
		63U2	2.9
		TAB91	2.2

a) Amablemente donados por el Dr. Duanne Gubler del CDC. Laboratorio de Virus Transmitidos por Vector, Fort Collins, Colorado, Estados Unidos de Norteamérica.

b) Ensayo realizado en ratón lactante contra 100/DI/RL/IC/0.02 ml.

X. BROTE DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LA COSTA DE CHIAPAS, MÉXICO EN 1993¹

**Marco A. Méndez Ochoa, Armando Mateos Poumían, Roberto Navarro López,
Cesar Villarreal Chávez, Moisés Fraire Cachon.**

A. Antecedentes	188
B. Epizootiología del brote	189
C. Aislamiento viral	189
D. Estrategias aplicadas para el control del brote	190
E. Coordinación interinstitucional	190
F. Situación hasta diciembre de 1995	191
G. Vigilancia epidemiológica de los municipios afectados	191

A. ANTECEDENTES

El 26 de junio de 1970, las autoridades de Sanidad Animal establecieron una campaña intensiva de vacunación contra la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) para controlar los brotes de esta enfermedad. Como resultado de esta campaña el 19 de septiembre de 1972 se detectó en las Islas Marías, Nayarit el último caso positivo de EEV.

Durante el año de 1991 se realizaron estudios serológicos en los estados de Sureste del país considerados de bajo riesgo, para demostrar la ausencia de vectores y poder declarar al país libre de cepas epizoóticas.

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MÉXICO, Chiapas, México, 1996.

B. EPIZOOTIOLOGÍA DEL BROTE

El día 29 de junio de 1993 se recibió en el Centro de Salud Animal de Mapastepec, Chiapas, el reporte de un cuadro neurológico en dos equinos del predio "El Recuerdo". El caso fue atendido ese mismo día por personal de ese Centro. Se encontraron equinos muertos que fueron exhumados para tomar muestras de encéfalo y así poder realizar el aislamiento del virus de la EEV en el laboratorio de Alta Seguridad de la Comisión México-Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y Otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA). Además se incrementó la vigilancia con visitas a los ranchos vecinos y se inició un rastreo intensivo, encontrándose antecedentes de equinos con un cuadro de tipo nervioso y mortalidad durante este mes.

El día 25 de julio se reportó el último caso y en esta fecha se habían acumulado 61 focos en 8 municipios de la costa de Chiapas, con un total de 63 animales muertos y 132 enfermos de un total de 417 equinos susceptibles en los predios afectados (Cuadro 1).

Los signos clínicos que presentaban los equinos comprendían incoordinación, deambular en círculo, ceguera, anorexia, fiebre, debilidad, se estrellaban contra objetos provocándose lesiones, mostraban espuma en el hocico y los ollares, edema en las patas y el cuello. El 70% de los animales afectados eran animales menores de dos años de edad, sin antecedentes de vacunación.

C. AISLAMIENTO VIRAL

El 15 de julio en el laboratorio de la CPA se identificó una variante del virus de la EEV. Se descartaron once enfermedades enzoóticas y exóticas como la Arteritis Viral Equina, Anemia Infecciosa Equina, Peste Equina Africana, Encefalitis Equina del Este, Oeste, San Luis y Japonesa. La intoxicación por plantas y toxinas de *Fusarium moniliforme*, Piroplasmosis equina, encefalitis bacterianas o por clamidias, influenza equina y Herpes equino.

Para la confirmación del aislamiento se remitieron las muestras el día 23 de julio al National Veterinary Service Laboratories (NVSL) en Ames, Iowa, en donde se confirmó que se trataba de un virus de EEV. Su tipificación se realizó el 13 de agosto en la Universidad de Yale en los Estados Unidos, siendo un virus de EEV tipo IÉ enzoótico.

"Posteriormente Sahu y Col. (1) demostraron mediante inoculación en equinos, que la cepa 1E aislada del brote era capaz de producir signos clínicos y mortalidad así como presencia de anticuerpos".

(1) Sudhir P. Sahu, Douglas D. Pedersen, David A. Aistad, Allen L. Jenny, and Beverly J. Schmitt.; Pathogenicity of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus Serotype 1E for Horses. Proceedings of the 41st Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Minneapolis, Minn. Oct. 1988.

D. ESTRATEGIAS APLICADAS PARA EL CONTROL DEL BROTE

Se efectuó una investigación epizootiológica de todos los reportes de casos sospechosos de EEV, aunado a las vigilancia epizootiológica permanente, el diagnóstico serológico, la vacunación de los equinos de los municipios afectados y áreas de amortiguación el control del movimiento de equinos, la cuarentena de la zona afectada y monitoreos de campo en fauna silvestre, el control de vectores, la difusión permanente a través de diferentes medios de comunicación social y la distribución de material gráfico para concientizar a la comunidad respecto a la importancia de identificar o reportar los casos sospechosos de EEV (Cuadro 2).

E. COORDINACIÓN INTERINSTITUCIONAL

Tomando en cuenta las características clínicas y epizootiológicas del problema, así como los resultados del laboratorio, las autoridades sanitarias realizaron las siguientes acciones:

1. La activación del Grupo Estatal de Emergencia de Salud Animal (GEESA) del Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal (DINESA).

2. La concertación de acciones con diversas dependencias federales, estatales y del sector ganadero. El 16 de julio se realizaron reuniones con los presidentes de las Asociaciones Ganaderas, la Unión Regional, las autoridades de la SARH y Desarrollo Rural y Ecología del estado de Chiapas. El propósito fue informar sobre la situación del problema y concertar los apoyos necesarios para el establecimiento de las medidas zoonosanitarias como la cuarentena, vacunación y el control de insectos hematófagos.

3. El establecimiento de la cuarentena en los municipios afectados y el control de la movilización de los equinos.

4. El establecimiento de la campaña de vacunación masiva contra EEV. Del 15 de julio al 16 de agosto se llevó a cabo la etapa de vacunación en los municipios afectados y áreas de amortiguación. Para llevar a cabo esta actividad los productores fueron informados a través de los medios de difusión. Se establecieron seis centros permanentes de vacunación y se instalaron 37 puestos para que llevaran sus animales. Un total de 38,660 dosis de vacuna fueron aplicados en el área de la costa de Chiapas y la costa de Oaxaca.

5. Notificación al sector salud. La Secretaría de Salud (SS) por su parte, una vez informada de la situación participó con una activa vigilancia epidemiológica para la detección de cualquier caso sospechoso de EEV en humanos. Las brigadas de la SS realizaron las fumigaciones de los predios afectados para eliminar la presencia de mosquitos transmisores de la enfermedad; la fumigación se realizó con malatión en dosis bajas a través de nebulización.

6. Intensificar la vigilancia epizootiológica a través del rastreo de aquellos equinos que se movilizaron del área cuarentenada de abril a junio a otros Estados del país, así como la atención de cualquier reporte sospechoso en los Estados donde se habían presentado casos de EEV.

F. SITUACIÓN HASTA DICIEMBRE DE 1995

Después de haber controlado el brote, el 22 de agosto de 1993 se levantaron las restricciones cuarentenarias; el movimiento de animales se efectuó sólo con la presentación del certificado de vacunación.

Se continuó con la vigilancia activa en la zona para la detección, rastreo y diagnóstico de todos los casos sospechosos en los estados de Oaxaca, Tabasco, Campeche, Quintana Roo y Chiapas. Asimismo, se realizaron programas preventivos por medio de la vacunación de 29,000 equinos en la costa de Chiapas en 1994.

En octubre de 1995 ante la presencia de casos de Encefalitis Equina Venezolana en Venezuela y Colombia, se inició un programa preventivo de vacunación en el Sureste del país aplicándose 100,000 dosis de vacuna en los Estados de Tabasco (21,800 dosis), Campeche (20,000 dosis), Quintana Roo en la frontera con Guatemala y Belice (3,000 dosis) y Chiapas con 55,200 dosis.

G. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LOS MUNICIPIOS AFECTADOS

Después del brote ocurrido en la Costa de Chiapas en 1993, en coordinación con el Sector Salud y el Instituto de Historia Natural de Chiapas, se realizaron monitoreos serológicos en animales domésticos y silvestres. También se colocaron hámsters y cuyos centinelas para detectar la actividad viral en los municipios en donde se presentaron casos sospechosos del estado de Chiapas. Los intentos de aislamiento viral durante el monitoreo de los animales centinelas y de especies silvestres fueron negativos hasta diciembre de 1995.

Cuadro 1. Número de focos y equinos enfermos, muertos y vacunados por Municipio

MUNICIPIO	NÚMERO DE FOCOS	ENFERMOS	MUERTOS	VACUNADOS
Arriaga	-	3	3	1,952
Tonala	1	4	1	3,823
Pijjiapan	7	33	10	6,558
Mapastepec	35	61	20	5,010
Acacoyagua	4	3	3	285
Escuintla	9	18	11	1,369
Acapetagua	4	10	7	
Villa Comaltitlán	1	0	0	1,910
Area Perifocal	-	0	0	15,763
.....				
Tota1	61	132	61	38,660

Figura 1. Mapa donde se señalan los municipios afectados y la zona de amortiguamiento.



MUNICIPIOS AFECTADOS

1. Arriaga
- 2.- Tonalá
- 3.- Pijijiapan
- 4.- Mapastepec
- 5.- Acapetagua
- 6.- Escuintla
- 7.- Acacoyagua
- 8.- Pueblo Nuevo Comaltitlan

■ ZONA DE AMORTIGUAMIENTO

XI. ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN EL ISTMO DE OAXACA, MÉXICO, 1996

Ángel O. Flores Hernández, César L. Villarreal Chávez, Roberto Navarro López, Marco a. Méndez Ochoa

A. Epizootiología del brote	194
B. Estrategías aplicadas en el brote	195
1. Investigación epizootiológica	195
2. Diagnóstico	195
3. Vacunación	196
4. Control de vectores	196
5. Control de movimiento de equinos	196
6. Difusión	196
7. Vigilancia epizootiológica	197

A. EPIZOOTIOLOGÍA DEL BROTE

El 19 de junio de 1996 fue notificado a la Comisión México Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA) el primer caso de un caballo con sospecha de Encefalitis Equina Venezolana (EEV) en el Rancho La Ceiba, municipio de Matías Romero, Oax. El caballo presentaba fiebre, incoordinación, caminaba en círculo, ceguera, lesiones severas en pecho y piernas debido a los choques contra las cercas de púas, insensibilidad, sudoración excesiva, ptialismo y movimientos involuntarios de belfos. Este animal fue sacrificado con autorización del propietario para realizar el diagnóstico de EEV. Se tomaron muestras de sangre, suero, encéfalo, páncreas y ganglios linfáticos. De acuerdo a la historia clínica y la alta densidad de vectores de esta región por su medio ambiente, se decidió realizar una vacunación contra EEV en anillo a 35 kms del foco a 3,165 equinos. Se realizaron rastreos epidemiológicos encontrando que en el rancho vecino a La Ceiba había muerto un equino con signología neurológica el 14 de junio. Asimismo, se logró determinar que la enfermedad llegó a esta zona por un acopiador de equinos que había comprado un caballo infectado en el municipio de Tapanatepec.

El segundo caso se presentó el 27 de junio y fue notificado por la Asociación Ganadera Local de Tapanatepec, Oax. a la CPA en los municipios de Tapanatepec y Chahuities, ambos colindantes con la costa de Chiapas, donde se había

presentado un brote de EEV en 1993. La investigación se realizó el día 28 de junio por técnicos del Dispositivo Nacional de Emergencia en Sanidad Animal (DINESA). Se localizaron tres equinos enfermos con signología neurológica y dos muertes de equinos por esta misma causa en la última semana del mes de mayo.

B. ESTRATEGIAS APLICADAS EN EL BROTE

Ante la sospecha de EEV, el DINESA de la SAGAR, en coordinación con la Secretaría de Salud, inició un operativo de emergencia de diagnóstico y erradicación. Las estrategias aplicadas en el brote consistieron en el rastreo e investigación epizootiológica de todos los casos reportados, el diagnóstico de la enfermedad mediante técnicas serológicas y de aislamiento viral, vacunación de la población equina susceptible, control de vectores mediante fumigaciones, monitoreo serológico de los equinos de la zona, restricción del movimiento de equinos mediante puestos de control de la zona focal y perifocal, así como hacia el resto del país, difusión del problema entre la población para el reporte de casos y vacunación, así como la vigilancia epizootiológica permanente dentro y fuera del estado para detectar cualquier equino sospechoso a EEV.

1. Investigación epizootiológica

En las 32 investigaciones epizootiológicas realizadas se colectaron 380 sueros de equinos y 6 encéfalos de los 35 focos de EEV detectados en los municipios de Matías Romero, Chahuites y Tapanatepec, Oaxaca (Cuadro 1 y Figura 1).

2. Diagnóstico

El diagnóstico y aislamiento viral fue realizado en el laboratorio de alta seguridad de la CPA. Para el aislamiento viral en los seis encéfalos recolectados, se inocularon ratones lactantes y el 20 de julio de dos encéfalos se logró el aislamiento del virus (Cuadro 2). Este aislamiento fue remitido al Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios (NLVS) del USDA en Ames, Iowa, para su tipificación. El 29 de julio identificaron un togavirus subtipo 1 variante E (1E). Los 380 sueros obtenidos en la fase aguda y convaleciente de los equinos, fueron trabajados por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. Se encontraron 154 sueros con anticuerpos a EEV (Cuadro 2). Las 23 muestras de sangre con anticoagulante fueron inoculadas y se obtuvo en dos de ellas el aislamiento del virus de EEV (Cuadro 2). La recolección de órganos, 25 en total resultaron negativos. En los estudios histopatológicos de 2 encéfalos se encontraron lesiones compatibles con una infección viral (Cuadro 2).

3. Vacunación

La vacunación se llevó a cabo en la zona focal y perifocal del área afectada; la focal comprendió a los municipios de Matías Romero, Chahuities y Tapanatepec y se aplicaron 5,519 de vacuna; el área perifocal correspondió a 29 municipios y fueron aplicadas 10,099 dosis, sumando un total de 15,618 equinos vacunados en 32 municipios del estado de Oaxaca.

La vacunación se llevó a cabo a través del Dispositivo Nacional de Emergencia de Sanidad Animal (DINESA), con apoyos de la Delegación de la SAGAR en el estado de Oaxaca, Secretaría de Desarrollo Agropecuario y Forestal del Gobierno del Estado y propietarios de equinos. Esta vacunación se realizó durante el período de 21 de junio al 18 de julio de 1996 en 228 puntos de vacunación de 32 municipios del estado.

4. Control de vectores

La Secretaría de Salud fue notificada de los casos de EEV detectados en la zona focal con varios propósitos: de realizar acciones para el control de vectores a través de fumigaciones de insecticidas en casas y predios, en donde se encontraban larvas de mosquitos, para detectar casos de EEV en los habitantes de los municipios afectados por medio de monitoreos serológicos y la presentación de casos febriles; no se reportaron casos sospechosos a EEV en la población durante el brote de EEV en los municipios de Chahuities y Tapanatepec, Oaxaca.

5. Control de Movimiento de Equinos

Se instalaron 20 puntos de control (Figura 2) en la zona focal y perifocal para establecer el control del movimiento de equinos fuera del área y hacia dentro y fuera del estado, por seis meses a partir del primer caso de EEV que se presentó en la zona del Istmo de Oaxaca.

6. Difusión

Con el propósito de promover la notificación de casos sospechosos y la vacunación, se transmitieron 78 impactos radiofónicos, una entrevista a través de dos radiodifusoras locales, se pintaron 20 murales, se repartieron 200 carteles, 500 trípticos, hubo pláticas en diversas comunidades apoyadas con proyección de la película de EEV, además de pláticas en las escuelas telesecundarias. Todas las comunidades apoyaron con sistema de altavoces para dar aviso de las fechas y horarios de vacunación en comunidades y rancherías.

7. Vigilancia epidemiológica

El último caso registrado ocurrió el 14 de julio de 1996 y hasta septiembre no se presentaron más casos sospechosos, sin embargo, se continuó con el control de movilización de equinos de la zona del Istmo de Oaxaca, así como con la vigilancia permanente de los municipios afectados. En el resto del país se atendieron 123 reportes de casos sospechosos a neuropatías de equinos ocurridos en 14 estados con resultado de laboratorio negativo a EEV. Estos casos fueron diagnosticados como intoxicación y rabia (enero - septiembre, 1996).

CUADRO 1. NÚMERO DE EQUINOS QUE ENFERMARON Y/O MURIERON DE EEV EN LA REGION DEL ITSMO, OAXACA, MEXICO, 1996

MUNICIPIO	ENFERMARON	MURIERON
Matías Romero	4	3
Chahuities	23	9
Tapanatepec	8	1
Total	35	13

CUADRO 2. TECNICAS DE LABORATORIO EMPLEADAS PARA DEMOSTRAR Y/O AISLAR VIRUS DE LA EEV A PARTIR DE TEJIDOS DE EQUINOS ENFERMOS, OAXACA, 1996

TEJIDOS	NO DE MUESTRAS	HISTOPATOLOGÍA	AISLAMIENTO EN RATÓN LACTANTE	SEROLOGÍA IH
Encéfalo	6	2	2	
Sueros	380			154
Sangres	23		2	
Otros órganos	25		0	

FIGURA 1. ZONAS EN DONDE APARECIERON BROTES DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN EL ISTMO DE OAXACA, 1996

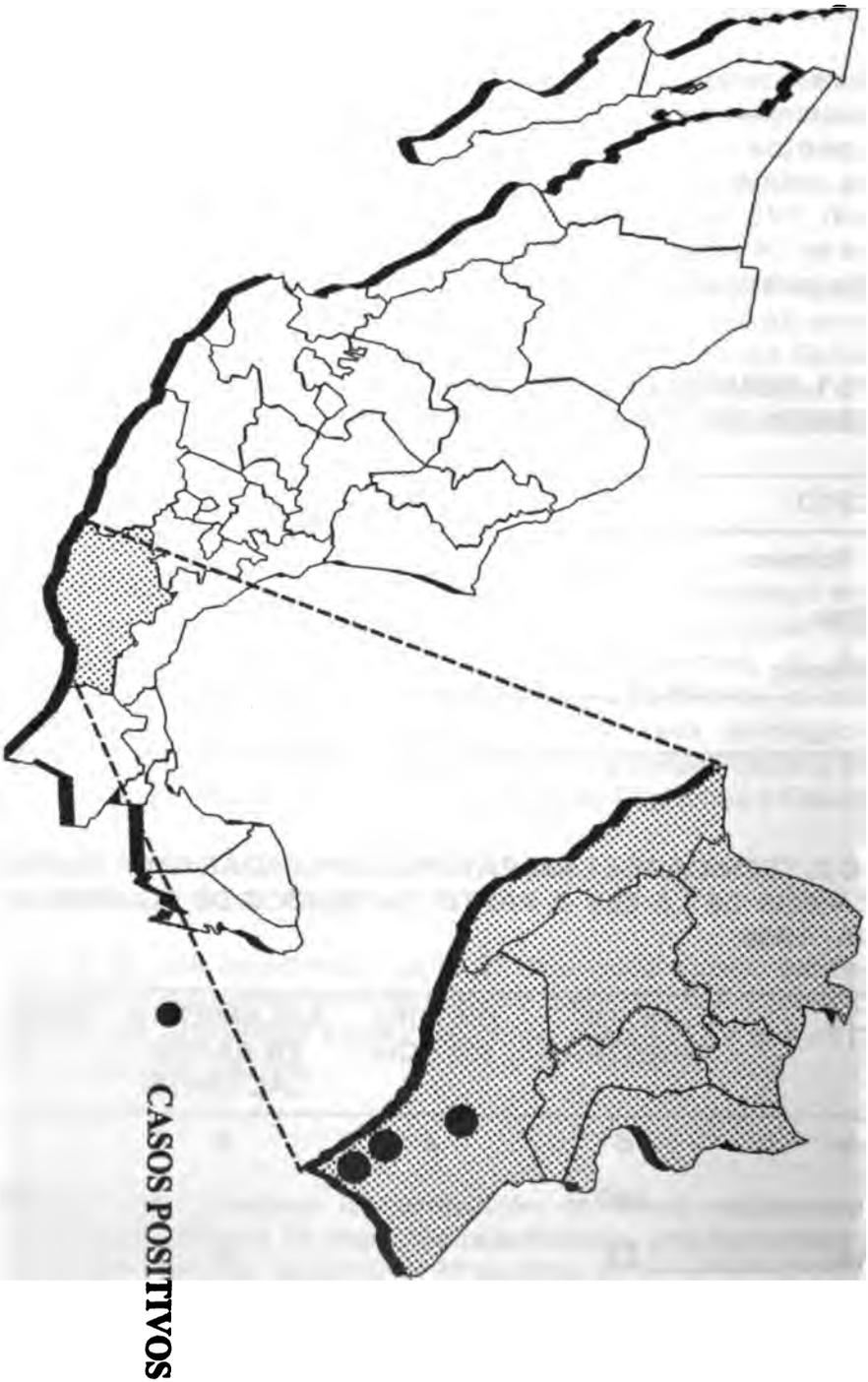
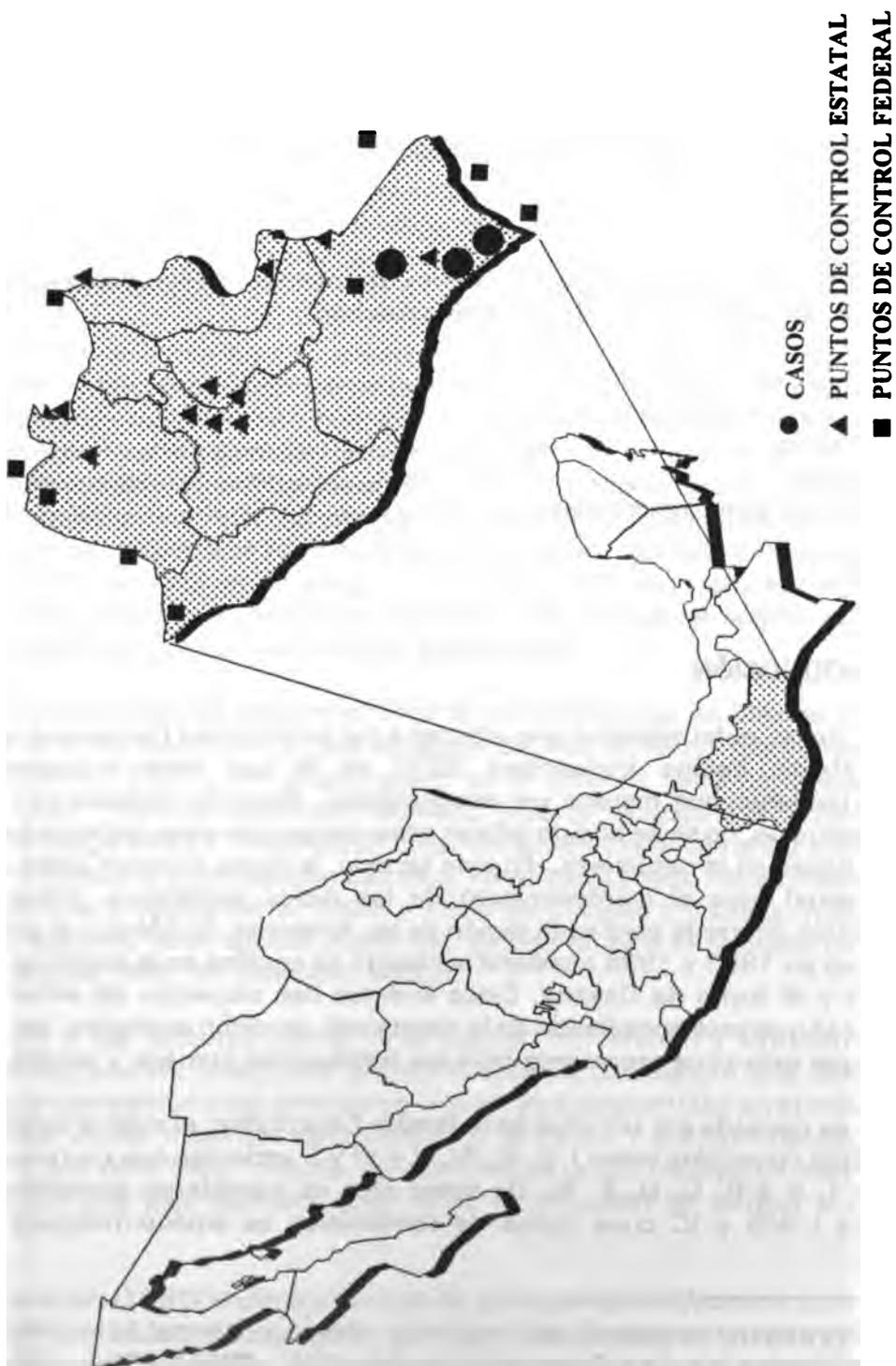


FIGURA 2. CONTROL DE MOVIMIENTOS DE EQUINOS EN EL ISTMO DE OAXACA , 1996



XII. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA PARA DETECTAR LA PRESENCIA DEL VIRUS ENDÉMICO DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LOS EQUINOS Y ANIMALES SILVESTRES DEL ESTADO DE CHIAPAS, MÉXICO ¹

Roberto Navarro López, Ángel O. Flores Hernández, César Villarreal Chávez, Marco A. Méndez Ochoa, Moisés Fraire Cachón

A. Introducción	200
B. Material y métodos	202
C. Resultados	204
D. Discusión	204
Lecturas complementarias	205

A. INTRODUCCIÓN

Dentro de las enfermedades que afectan a las poblaciones humanas y animales la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) es la que tiene actualmente un comportamiento que merece ser reinvestigado. Después de haberse realizado varios estudios, no se ha podido aclarar como surgen los virus epidémicos y como se mantienen en la naturaleza. En este sentido, la fauna silvestre juega un papel fundamental para el mantenimiento de los ciclos endémicos, teniendo una distribución diferente para cada región de las Américas. En México el subtipo I-E endémico en 1993 y 1996 ocasionó la muerte de equinos en la región costera de Chiapas y el Istmo de Oaxaca. Estos eventos han requerido de estudios para conocer lo que está sucediendo en la naturaleza, su nicho ecológico, así como el riesgo que este virus representa para las poblaciones humana y equina.

La EEV es causada por un virus de la familia *Togaviridae*, el cual se subdivide en 6 subtipos conocidos como I, II, III, IV, V y VI y 5 variantes que corresponden al subtipo I, (I A/B, C, D, E, F). De éstos solo se consideran epizooticos a los subtipos I A/B y IC cuya forma de transmisión es equino-mosquito-equino,

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MÉXICO, Chiapas, México, 1996.

pudiendo afectar tangencialmente a los humanos por las altas viremias que presentan los equinos. El resto de los subtipos y variantes se consideran no epidémicas y son de tipo endémico que tienen ciclos silvestres, cuya forma de mantenerse en la naturaleza es a través de diversos mamíferos silvestres, principalmente en un ciclo de roedores-mosquitos-roedores. También pueden intervenir otras especies animales como los quirópteros, marsupiales y carnívoros. La distribución de estos subtipos y variantes sólo se encuentra en América. En México y Centro América se encuentra el subtipo I variante E en las regiones tropicales y subtropicales.

La distribución de estos virus en especies domésticas y silvestres es muy amplia, encontrando anticuerpos neutralizantes o IH en caballos, burros, mulas, perros, cabras, cerdos, ovinos y bovinos, marsupiales, roedores, lepóridos, zorras y quirópteros entre otros animales de la fauna silvestre. Corristan en 1956, informó que en los murciélagos inoculados y mantenidos a temperaturas inferiores de los 10 C, el virus se mantenía por períodos prolongados de hasta 90 días y que a medida que se aumentaba la temperatura ambiental, también se aumentaba la concentración de virus en la sangre. Correa en 1970 aisló el virus a partir de vísceras del murciélago *Desmodus rotundus*, por lo que se sugirió que estos animales podrían jugar un papel como reservorios.

Scherer y colaboradores aislaron el virus IE por primera vez en México en el año de 1963 en el sur de Veracruz. Los aislamientos más recientes fueron realizados en el INDRE en 1991 y en el laboratorio de la CPA en 1993 en Mapastepec, Chiapas y en 1996 en Chahuities, Oaxaca, a partir moscos y de equinos con signología típica de EEV respectivamente. De acuerdo a la literatura consultada el virus I-E induce la encefalitis en caballos, como ha quedado comprobado en los brotes de esta enfermedad en 1993 y 1996 en Chiapas y Oaxaca, México, en equinos; además, este agente puede ser patógeno para el humano como fue demostrado en 1991 en Tabasco, México.

En relación a los vectores con el virus subtipo I-E, Walton y Grayson (1989) encontraron, que los mosquitos que se infectaron con sangre que tenían una elevada concentración viral, en 4 horas el virus ya se encontraba en el mesenterio y los títulos virales máximos se encontraron entre los 7 a 9 días después de la infección; por otro lado, cuando se alimentaron a los mosquitos con sangre conteniendo una baja concentración viral, la infección se retrasó o ésta no ocurrió.

Linthicum *et al.* (1991) encontraron que las garrapatas *Amblyomma cajennense* pueden infectarse, mantener el virus y transmitirlo. El virus se encontró después de 171 días post infección, y si se considera que pueden mantener al virus

durante períodos interepizooticos, es importante determinar el papel que podrían jugar en la epidemiología de los virus endémicos en México.

Para los subtipos endémicos de la EEV, existen nichos ecológicos en donde conviven los virus, hospedadores y vectores, y que Pavloski (1966) clasifica como "enfermedades de nidos naturales." En estos nichos se presentan casos clínicos cuando un hospedador susceptible entra en este ciclo. Sin embargo, actualmente se ha observado lo opuesto con el virus de la EEV, I-E en el Sureste de México, pues se ha detectado la exacerbación de la actividad viral asociada probablemente a la alteración de los nichos ecológicos naturales como consecuencia de la actividad del hombre.

El objetivo de este estudio fue el establecer una posible explicación de la exacerbación de la actividad viral en los equinos de Chiapas. Para esto se efectuaron estudios serológicos y de aislamiento viral en mamíferos silvestres y equinos jóvenes menores a dos años. Además, se trató de asociar la presencia de virus endémicos de EEV con especies y géneros que habitan en seis zonas bióticas del estado de Chiapas. Los resultados permitirán determinar las regiones potencialmente más peligrosas para los équidos y humanos.

B. MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio. Para la realización del presente estudio, se utilizó la división por zona biótica, ecológica o biogeográfica de Chiapas, de acuerdo al Instituto de Historia Natural del Estado (10). Se seleccionaron 6 zonas bióticas de las 7 existentes; éstas fueron la sabana costera, estero dulce, estero salobre, bosque de coníferas, bosque caducifolio y bosque húmedo perennifolio. La zona biótica de nublisilva no se consideró para el estudio por no corresponder a las características climáticas adecuadas para el desarrollo del virus de la EEV.

Los períodos de investigación correspondieron al mes de noviembre de los años de 1993, 1994 y 1995 después del período de lluvias que corresponde desde mayo hasta septiembre.

Zonas de captura de los animales. En cada zona biótica se seleccionaron los puntos de captura de mamíferos.

Para interrelacionar el muestreo de animales silvestres y domésticos se obtuvieron muestras de canideos y equinos menores de 2 años de edad en lugares sin antecedentes de vacunación en 33 municipios. No se realizó este monitoreo en

la región Sabana por el hecho de que ahí se han estado vacunando a los equinos todos los años.

Los horarios de captura de los mamíferos fueron nocturnos, utilizando diferentes materiales según la especie; y para la captura con trampas Sherman y Havahart se utilizaron como cebo diferentes alimentos.

El trampeo se realizó durante la tarde ubicando las trampas Sherman a una distancia de 10 a 15 metros entre sí, y con las Havahart de 20-40 metros durante parte de la tarde y la noche. La revisión y colección se hizo a la mañana siguiente.

Las redes japonesas se ubicaron en diversos sitios como árboles frutales y arroyos, o se solicitaba al propietario de la parcela que se permitiera colocar redes cerca de los bovinos u ovinos que tuvieran mordeduras de vampiro. Las redes se revisaban cada 20 a 30 minutos y los murciélagos capturados se guardaban en bolsas de manta o jaulas según la especie capturada.

Obtención de muestras. A todos los animales silvestres se le tomó una muestra sanguínea por punción cardíaca, previa anestesia con éter. Se utilizaron jeringas de 1 ml y aguja de 25 x 16; la sangre se colectó en tubos de 1 ml tipo microtainer con gel separador de suero, se centrifugó a 4000 rpm y el suero se congeló en nitrógeno líquido.

Los cadáveres se identificaron taxonómicamente, se les asignó una clave y número según lugar de captura y se conservaron en congelación.

Los equinos y las otras especies mayores se muestrearon con tubos vacutainer de 10 ml con gel separador de suero; la sangre se centrifugó y el suero se conservó en congelación.

Aislamiento viral. Se hizo una suspensión al 10% en solución amortiguadora con antibióticos con las muestras de bazo y encéfalo y se inocularon por vía intracerebral a ratones lactantes de dos días de edad, así como en cultivos de monocapas de células VERO.

Prueba de Inhibición de la hemaglutinación (IH). Se utilizó como antígeno el elaborado en el laboratorio de la CPA con la cepa IE enzoótica de la Costa de Chiapas, siguiendo la técnica del Center for Disease Control (CDC). Para la técnica de inhibición de la hemaglutinación se consideró a un suero positivo cuando tenía un título mayor a 1:10.

C. RESULTADOS

Se obtuvieron 503 sueros de mamíferos silvestres y 614 sueros de equinos. Además, se colectaron 503 cadáveres de mamíferos silvestres para intentar el aislamiento de virus.

En el Cuadro 1 se presenta el número de animales muestreados, la zona biótica de donde se colectaron y los resultados de la serología. De ninguno de los órganos de los animales se pudo aislar el virus.

Se capturaron animales pertenecientes a los Ordenes zoológicos Chiroptera, Marsupialia y Rodentia.

Con respecto a la prevalencia de anticuerpos contra el virus de la EEV se encontró que el 25.6% (129/503) de los animales silvestres fueron positivos, el 7.6% (47/614) de los equinos y 20% (2/10) de los caninos. En el cuadro 1 se muestra la presencia de anticuerpos con relación a las zonas bióticas en donde se capturaron los animales.

De la fauna silvestre estudiada, los murciélagos mostraron un promedio del 26.3% de positividad al virus de la EEV, pero fue del 51 y 43% en las zonas de bosque caducifolio y de coníferas respectivamente.

D. DISCUSIÓN

Después de no haberse detectado actividad viral de EEV en las zonas subtropicales del sureste de México por 20 años, reaparece en dos casos humanos febriles en Tabasco, 1991 y posteriormente asociado a dos brotes de EEV en la costa de Chiapas e Istmo de Oaxaca en 1993 y 1996 respectivamente. Estos sucesos dieron origen al reforzamiento de la vigilancia epizootiológica de esas zonas, donde las condiciones ecológicas son propicias para preservar el virus de EEV en ciclos enzoóticos.

En este trabajo se señala por medio de monitoreos en fauna silvestre la presencia de anticuerpos en seis de siete zonas bióticas que conforman el estado de Chiapas. Es importante el desarrollo de este tipo de estudios de vigilancia epizootiológica en fauna silvestre que permita detectar con oportunidad la actividad viral en las zonas de Chiapas y otros estados como Oaxaca y Tabasco. En estos estudios se puede incluir la ecología, dinámica poblacional de vectores, monitoreos meteorológicos, vigilancia en huéspedes vertebrados, centinelización, inmunidad de los equinos en la zona, lo que permitirá tomar medidas preventivas

y de control adecuadas, en las zonas donde se detecte actividad viral por medio de monitoreos serológicos y aislamiento del virus en la fauna silvestre de las zonas bióticas de Chiapas y otros estados.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

Acha N.P. y Syfres B.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles al hombre y a los Animales. OPS Publicación Científica No. 354, 1977.

Agenda Estadística Chiapas: Gobierno del Estado de Chiapas, México, 1994.

Aguirre A. A. and Mc Lean R.G.: Serologic survey for selected arboviruses and other potential pathogens in wildlife from Mexico. J. of Wildlife Dis., 28:435-442, 1992.

Aranda M. y March I.: Guía de los Mamíferos Silvestres de Chiapas, Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Programa para Estudios de Conservación Tropical, Univ. de Florida, Fed., Mexico, 1987.

Comisión Mexico-Estados Unidos para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA). Vigilancia Epizootiológica para Encefalitis Equina Venezolana, Mexico 1990.

Constantine, D.G.: Transmission of pathogenic microorganisms by vampire bats. Dep. of Health Services, Berkeley, California, USA, 1988.

Correa G. P.: Encefalitis Equina de Venezuela. Enfermedades Virales de los Animales Monogástricos, pp. 3-38, Mexico, 1982..

Corristan E.C., La Motte L.C. Jr. and Smith, D.G.: Susceptibility of bats to certain encephalitis viruses. Fed. Proc., 15:584, 1956.

Divo, A.U. and Benavides, G.: The role of *Rhodnius prolixus* in the transmission of Venezuelan Equine Virus. Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela, A.O. 550, 1978.

Eccardi F. y Álvarez del Toro R.: Aspectos Generales de la Ecología en el Estado de Chiapas, Recopilación del Instituto de Historia Natural de Chiapas, Chis. Mexico, 1983.

Ferreira B.B., Ivani Pereira E. L.: Surveillance of arbovirus infections in the atlantic region state of Sao Paulo, Brazil, y detection of hemagglutination inhibiting antibodies in wild birds between 1978 and 1990, Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 36 (3); 265-274, 1994.

Foreign Animal Diseases, U.S.A.: Animal Health Association Library of Congress Catalog. Cord. Number 17-12842 1992, pp. 360-367 Richmond, Virginia, USA.

Geevarghese, G. and Banerjee K.: Role of bats in the natural cycle of arboviruses. National Institute of Virology, 20A Dr. Ambedkar Road, Phone 411, India, 1990.

Johnson K. M. and Martin D. H.: Venezuelan equine encephalitis. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., 18:79-116, 1974.

Linthicum, K.J. and Gordon S.: Comparative infections of epizootic and enzootic strains of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus in *Amblyomma cajennense*. J. Med. Entomol., 29:827-831, 1992.

Lord R.: Field Techniques in Arbovirus Ecology Studies, CEPANZO, OPS/OMS, Argentina.

Pavlosky, E.N.: Natural Nidality of Transmissible Disease. Univ. of Illinois Press, Urbana, Ill, USA, 1966.

Reta P. G. y Sáenz B. R.: La Encefalitis Equina Venezolana como Problema de Salud Pública en Mexico. Subsecretaría de Ganadería, Mexico, 1973.

Rico-Hesse R. and Wague S. C.: Emergence of a New Epidemic/Epizootic Venezuelan Equine Encephalitis Virus in South America. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:5278-5281, 1995.

Rosenberg, F. J.: Principios de Epidemiología. OPS/OMS, Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Manual Didáctico No. 1.

SARH: Sistema Nacional de Emergencia de Sanidad Animal, Órgano Informativo Oficial, 7: 13-17, Mexico, 1993.

Scherer, W. F. and Weaver S.C.: Vector incompetency. Its implication in the disappearance of epizootic VEE virus from Middle America. J. Med. Entomol., 23:23-29, 1986.

Sneider, J. M. and Dinnay R. M. Tsuchiya: Molecular evidence that epizootic Venezuelan Equine Encephalitis (VEE) I-AB Viruses are not evolutionary derivatives of enzootic VEE subtype IE or II viruses.

Sudia, W. D. and Lord R.: Recolección y Procesamiento de Especímenes de Vertebrados para Estudios de Arbovirus, Center for Disease Control, Atlanta, EU, 1970.

Sulkin S.E.: The bats as a reservoir of virus in nature", Prog. Med. Virol., 4:157, 1952.

Sulkin S.E., Allen R.R. and Sims R.A.: Lipotropism in pathogenesis of encephalitis viruses in insectivorous bats, Virology, ii:302-306, 1960.

Walton T.E. and Grayson M.A.: Venezuelan equine encephalomyelitis. In, Monath TP, (ed.). The arboviruses epidemiology and ecology. Boca Ratón Florida: CRS Press, USA. pp. 203-225, 1989.

Wells E.A.: Mammalian wild life diseases as hazards to man and livestock in an area of the Llanos Orientales of Colombia. Centro Int. de Agric. Trop., A.A.67-13, Col. Colombia, 1981.

Williams H.C.: Bats and Arboviruses in East Africa, 1964.

Zárate A. M.L., Valdespino G.J.L., Rivero, L.V. y Madrigal A. G.: Circulación del virus de la encefalitis equina venezolana después de 20 años de silencio en Tabasco, México, 1991. En: Capítulo IX en este libro.

CUADRO 1. SEROPositividad por IH ENCONTRADA PARA EL VIRUS DE LA EEV EN ANIMALES SILVESTRES Y DOMÉSTICOS DEL ESTADO DE CHIAPAS, MÉXICO, 1993 - 1995

NOMBRE COMÚN	ZONA BIÓTICA													
	Boque caducifolio (0-120 msnm)		Boque de coníferas (170-2800 msnm)		Boque húmedo (> 1200 msnm)		Sabana (50 msnm)		Estero Salado (0 msnm)		Estero dulce (0 msnm)		Totales	
	+/total	%	+/total	%	+/total	%	+/total	%	+/total	%	+/total	%	+/total	%
Murciélagos	33/64	51	29/66	43	6/36	16	48/236	20	0/7	0	4/46	8	121/460	26.3
Tlacuachines	0/2	0	NE		NE		1/8	12	1/3	33	NE		2/13	15.3
Ratones	1/9	11	0/5	0	0/1	0	3/5	60	NE		NE		4/20	20
Perros	NE		NE		NE		0/7	0	2/2	100	0/1	0	2/10	20
Subtotal no equino	34/75	45.3	29/71	40.8	6/37	16.2	52/256	20.3	3/12	25	4/47	8.6	129/503	25.6
Equinos	0/244	0	0/103	0	40/260	15	NE		7/7	100	NE		47/614	7.6
Total incluyendo equinos	34/319	10.6	29/174	16.6	46/297	15	52/256	20	10/19	52	4/47	8.5	126/1117	15.7

XIII. ARBOVIRUS CAUSANTES DE ENCEFALITIS EN CENTROAMÉRICA Y EN LA AMAZONIA DE BRASIL ¹

Amelia Paes De Andrade Travassos Da Rosa, Pedro Fernando Da Costa Vasconcelos, Jorge Fernando Soares Travassos Da Rosa y Nicolas Degallier.

A. Introducción	209
B. Virus del complejo de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV)	210
1. Mucambo (MUC)	211
2. PIXUNA	213
C. Encefalitis Equina del Este (EEE)	214
D. Encefalitis Equina del Oeste (EEO)	215
E. Encefalitis De San Luis (ESL)	216
Referencias	217

A. INTRODUCCIÓN

Dentro de los 504 arbovirus registrados en la tercera edición del Catálogo Internacional de Arbovirus (13), apenas siete virus causan cuadros de encefalitis en el continente americano. Ellos son los virus de la encefalitis de San Luis (ESL), la encefalitis de California (EC), la encefalitis equina del este (EEE), la encefalitis equina del oeste (EEO), la encefalitis equina de Venezuela (EEV) Rocío (ROC) y Powassan (POW).

Estos virus constituyen una importante causa de morbi-mortalidad en equinos y en humanos y tienen en común un tropismo especial para el sistema nervioso central (SNC), con diferentes grados de severidad (18). Los seis primeros son transmitidos al hombre y a otros animales por picadura de mosquitos, en tanto que el último, POW, está vinculado con las garrapatas (Cuadro 1). Epidemiológicamente los virus ESL, EEE, EEO, EEV y ROC son responsables de cuadros endemo-epidémicos, en tanto que EC y POW causan infecciones esporádicas y endémicas (13,27).

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MÉXICO, Chiapas, México, 1996.

De los arbovirus capaces de causar epidemias, el de la ESL seguramente es el más prevalente en el nuevo mundo, principalmente en los Estados Unidos de América (EUA) donde determina más casos de enfermedad que todos los otros juntos (15). En América del Sur y Central, las infecciones humanas causadas por EEV, ESL, ROC, y EEE han sido registradas en el curso de las últimas cuatro décadas (8,10,13,14,16,24). Por otro lado, las epizootias equinas (en general asociadas con casos humanos) han sido reportadas en Argentina, Brasil, Colombia, Costa Rica, Guyana y Venezuela (6,12,17,27).

En este trabajo se presentan algunos aspectos de la epidemiología de los virus encefalíticos en la Amazonia Brasileña, como son los de la EEV (subtipos III y IV), EEE, EEO y ESL. Con excepción de la ESL causada por un flavivirus (género *Flaviviridae*), los demás pertenecen al género alfavirus (género *Togaviridae*).

B. VIRUS DEL COMPLEJO DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (EEV)

La Encefalitis Equina Venezolana es causada por el virus de la EEV, que es miembro del grupo A de los arbovirus, género Alfavirus de la familia *Togaviridae* (13), tiene un comportamiento epidemiológico relacionado a la existencia de diversos subtipos y variedades (Cuadro 2). Al presente, por lo menos 6 subtipos son distinguibles por medio de pruebas serológicas y fisicoquímicas (2,3,19,26,29). Dentro del subtipo I, fueron encontradas las cepas de virus más frecuentemente asociadas con epizootias y epidemias. Estas cepas fueron clasificadas en seis variedades: IA, IB, IC, ID, IE y IF. Posteriormente las variedades IA y IB fueron consideradas similares y agrupadas como I-AB.

Epidemiológicamente ha sido más conveniente considerar los subtipos I-AB y IC como cepas epizoóticas, puesto que han sido aisladas durante epizootias en equinos y han mostrado ser más patogénicas para caballos y hombres que las variantes ID, IE, y IF y a los subtipos II, III, IV, V y VI, como enzoóticas (29). Recientemente, Iversson y col. (11) describieron un cuadro de enfermedad humana causada por el subtipo IF, en la región del Valle de Riveira, en el Estado de Sao Paulo, Sudeste del Brasil.

En el ciclo epizoótico los equinos son claramente los amplificadores primarios de la actividad del virus. En el ciclo silvestre, los roedores del género *Oryzomys*, *Proechimys*, *Sigmodon*, *Peromyscus*, *Heteromys* y *Zygodontomys*, así como 11 especies de aves silvestres, han sido virológica o serológicamente incluidas en el ciclo de transmisión. Otros animales tales como murciélagos (*Artibeus*, *Carollia*), marsupiales (*Didelphis*, *Caluromys*, *Philander*, *Marmosa*), ratones (*Rattus*) perezosas, conejos y primates no humanos, pueden contribuir para el

mantenimiento del ciclo enzoótico (31). En relación al posible papel de las aves silvestres como hospederos silenciosos de la EEV, este es uno de los aspectos más complicados en el estudio de este virus. La literatura reporta aislamientos del subtipo IV de por lo menos siete especies (12,13,26,27). Se han encontrado anticuerpos IH y neutralizantes nada menos que en 23 especies.

Numerosos géneros y especies de insectos hematófagos han sido incluidos en los ciclos de transmisión silvestre y epizoótico de los virus EEV. Los vectores primarios en el ciclo enzoótico difieren de aquellos identificados en el ciclo epizoótico. Por lo menos 41 especies pertenecientes a 11 géneros de mosquitos han sido reportados como infectados en la naturaleza con virus silvestres. De éstos, 20 especies pertenecen al género *Culex* (*Cx*) y 13 al subgénero *Melanoconion* (*Mel*). Otros géneros de mosquitos de los cuales han sido aislados virus EEV incluyen: *Sabethes*, *Wyeomyia*, *Limatus*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Aedes*, *Deinocerites*, *Haemagogus*, *Aedeomya* y *Coquillettidia* (31).

Una gran variedad de especies de insectos hematófagos también puede estar involucrada en la transmisión del virus EEV epizoótico quedando incluidas por lo menos 34 especies pertenecientes a 8 géneros de mosquitos dentro de los cuales sobresalen: *Mansonia titillans*, *Mansonia indubitans*, *Psorophora* (*Ps*) *confinnis*, *Ps. discolor*, *Aedes* (*Ae*) *thelcter*, *Deinocerites* (*D.*) *pseudus*, *Aedes sollicitans*, *Ae. taeniorhynchus*, *Ae. scapularis* (31).

Conviene resaltar que dadas las altas viremias reportadas en equinos, la posibilidad de transmisión mecánica sumada a la transmisión biológica, debe ser considerada virtualmente para cualquier insecto hematófago. Por ejemplo, *Simulium* sp. fue incriminado en una región en Colombia. Fuera de esto, hay un aislamiento en Belem. Brasil. El virus también ha sido aislado en Culicoides.

Las cepas enzoóticas están en permanente actividad en las áreas tropicales y subtropicales de América. Las epizootias ocurren durante la estación de lluvias. Las infecciones humanas están claramente relacionadas con la entrada del hombre a focos silvestres. En la Amazonia del Brasil han sido aislados los subtipos III-Mucambo y IV-Pixuna.

1. Mucambo (MUC)

El primer aislamiento del virus MUC fue hecho en 1954 a partir de sangre de un mono centinela expuesto en la floresta del Oriboca, en las proximidades de Belem. Posteriormente el virus fue aislado numerosas veces de ratones centinelas, roedores silvestres y mosquitos, en el Brasil, Trinidad, Guyana francesa y Surinam

(Cuadro 3). El agente también ha sido obtenido esporádicamente a partir de sangre de personas febriles en la Amazonia del Brasil y en Surinam (22). No se han registrado epidemias.

El virus MUC es clasificado como subtipo III del complejo de virus EEV, siendo por lo tanto un arbovirus del grupo A. En lo que concierne a las propiedades fisicoquímicas está incluido en el género *Alfavirus* de la familia *Togaviridae* (13).

Los cuadros clínicos y la sintomatología descrita en pacientes infectados por el virus MUC, provienen principalmente de las observaciones obtenidas en pacientes de los cuales ha sido posible aislar al virus; la mayoría ocurrieron en la Amazonia del Brasil y dos casos con aislamiento viral fueron reportados en Surinam. El período de incubación es desconocido. La enfermedad se caracteriza por un síndrome febril agudo, benigno. El inicio de los síntomas es abrupto, con fiebre moderada, cefalea, aletargamiento, dolores musculares en las extremidades y dorso. El período de incubación es de aproximadamente tres días. En dos casos de infección de laboratorio, los pacientes manifestaron sintomatología más severa, con fiebre elevada, cefalea y faringitis intensa, además de algunas manifestaciones neurológicas. La evolución fue benigna y sin secuelas (22).

El virus MUC es endémico en ciertas áreas de la Amazonia del Brasil. En diferentes localidades de la región, la prevalencia de anticuerpos varía de 0 a 34 % con una media de 6%. Aunque no se han reportado brotes de enfermedad humana, si se han diagnosticado algunos casos febriles, en Pará, Brasil y dos en Surinam confirmados por aislamiento del virus. Conviene resaltar que ninguno de los pacientes necesitó de hospitalización o de ausentarse de su trabajo durante la enfermedad (5,26). Otro caso de MUC con aislamiento del virus ocurrió en 1991 en la región hidroeléctrica Samuel, Rondonia, en la Amazonia de Brasil (21).

El MUC es un virus cuyo ciclo principal no sucede sólo y en el cual participan roedores (Figura 1) especialmente el *Oryzomys capito*. El vector principal parece ser el *Culex (Melanoconion) portesi*, especie nocturna y rodentófila que se alimenta también de monos, aves y hasta reptiles. El espectro de otros hospederos artrópodos incluye a especies diurnas y ornitófilas de los géneros *Aedes*, *Haemagogus*, *Mansonia*, *Coquillettidia*, *Psorophora*, *Wyeomyia* y *Sabethes*, especies nocturnas y crepusculares ornitófilas como los *Culex (Cux.) sp.* Esos mosquitos probablemente participan de un ciclo secundario en un nivel más alto de la floresta, involucrando marsupiales arbóreos y posiblemente monos y murciélagos (demostrado por serología y por aislamientos positivos)

El posible papel de las aves como hospederos silenciosos es uno de los aspectos complejos en la ecología de estos virus. El aislamiento del virus MUC a partir de

aves silvestres es poco frecuente (uno sólo en la Amazonia del Brasil) y al contrario de los resultados obtenidos en otras regiones, las especies estudiadas en varios años fueron negativas para anticuerpos IH contra ese virus. Por consiguiente, es posible aunque poco probable la existencia de otro ciclo secundario involucrando aves. Este agente no ha sido asociado con enfermedad en ninguna especie de animal doméstico, en contraste con las muestras epidémicas de EEV que son altamente patogénicas para los caballos. Experimentalmente un caballo de diez meses, sin anticuerpos para los alfavirus circulantes en la Amazonia del Brasil, inoculado por vía intramuscular con alta dosis de virus MUC, presentó fiebre 24 horas después de la inoculación permaneciendo acostado durante su enfermedad. A las 48 hrs la temperatura retornó a la normalidad y el animal volvió a caminar; no ocurrieron lesiones de tipo secuela. Un mono *Sinomologus sp.* inoculado intracerebralmente con el virus MUC, desarrolló fiebre, ligera paresia y encefalitis (21).

2. PIXUNA

El virus Pixuna es un arbovirus del grupo A y constituye el subtipo IV del complejo EEV. De acuerdo con el sistema de clasificación universal pertenece al género *Alfavirus* (13). Fue aislado en dos ocasiones de mosquitos capturados en la carretera Belem-Brasilia. El prototipo (BE AR 35645) obtenido en 1961, proviene de un lote de *Trichoprosopon digitatum*, en tanto que el segundo, de *Anopheles nimbus*. Un tercer aislamiento fue obtenido de las vísceras de un ratón *Proechimys guyannensis (Echimyidae)* capturado en la floresta de IPEAN, en las proximidades de Belem (22). La única infección humana documentada hasta el presente fue probablemente adquirida en el laboratorio, en 1961. La paciente presentó un cuadro clínico caracterizado por fiebre moderada, cefalea, aletargamiento, dolores musculares más intensos en la región lumbar, adinamia, y anorexia por tres días. La cuenta leucocitaria realizada en el segundo día de la enfermedad mostró leucopenia (3500 leucocitos) con linfocitosis (22). Desde entonces no se han obtenido más aislamientos de este virus.

Un caballo inoculado por vía intramuscular con alta dosis del prototipo de PIX, permaneció afebril. No hubo virus circulante. No obstante el animal desarrolló leucopenia. El suero obtenido 13 días post infección neutralizó 4.9 log de PIX y 2.1 log de MUC (26).

La tasa global de infección en aves silvestres con serología específica positiva fue de 0.7% entre 9 especies, lo que puede indicar que eventualmente estos animales pueden servir de hospederos del PIX (30).

C. ENCEFALITIS EQUINA DEL ESTE (EEE)

Desde el punto de vista de sus propiedades fisicoquímicas, el virus EEE pertenece al género *Alfavirus*, de la familia *Togaviridae*. Antigenicamente es miembro del grupo A de los arbovirus (13). Produce encefalitis graves y muchas veces fatales en equinos, en aves y en el hombre, causando inflamación y destrucción del SNC (19).

El virus EEE ha causado epizootias en equinos en América del Sur, aunque en esta parte del continente los casos humanos de encefalitis han sido muy raros. En Brasil hay apenas el registro de un caso fatal de encefalitis comprobado por aislamiento del virus, ocurrido en Salvador, Bahía, al nordeste del Brasil (1). En la Amazonia, aunque existen evidencias serológicas de infecciones por el mismo, de alrededor del 1% o menos en residentes de ciertas localidades, no hay indicios de la ocurrencia de brotes (casos) de encefalitis. Sin embargo, el 29% (12/41) de los habitantes de Cameta, Pará, examinados en 1953, presentaron anticuerpos neutralizantes para el virus EEE. Posteriormente (1960) se verificó que 12 (22%) de 55 residentes de esa misma ciudad (Cameta), poseían anticuerpos IH para el virus en cuestión (6,7,27).

La ausencia de infecciones humanas con alteraciones neurológicas asociadas al EEE constituye todavía un enigma (22). Se ha admitido que las cepas existentes en la Amazonia de Brasil presentan una reducida virulencia para el hombre. Inclusive ya se han detectado diferencias antigénicas entre las muestras aisladas en América del Norte y en la Amazonia (4). Si este fuera el caso, no parece ser extensivo a los equinos, ya que una vez por lo menos fue comprobada una epizootia de encefalitis equina determinada por el EEE en la región de Braganza, Pará, Brasil, en 1960 (6). En aquella ocasión, dos cepas de EEE fueron aisladas de caballos, una de sangre de un animal enfermo y otra del cerebro de un caso fatal. Simultáneamente otras tres cepas de EEE fueron aisladas de mosquitos *Aedes taeniorhynchus*, vector epizoótico del EEE (Figura 2).

Cerca de 500 caballos vivían en el área y el 61% fueron positivos por estudios serológicos usando la prueba de IH. Entre los infectados ocurrió una letalidad del 8.2%. Estudios similares indican que 2 de 23 seres humanos probados fueron positivos.

El EEE es endémico en la floresta de la APEG, habiendo sido aislado en 15 de los 35 últimos años (25, 30). En 1963 los estudios realizados en cooperación con el Museo Nacional (Washington, EUA) y el Museo Paraense "Emilio Goeldi" (Belem, Brasil) para establecer el papel de las aves silvestres en la epidemiología de los arbovirus en la amazonia, mostraron que de 989 órganos y 395 plasmas

inoculados en ratones para pruebas de aislamiento del virus, apenas dos cepas fueron obtenidas, ambas de EEE; una a partir de *Rhamphocelus carbo* (*Thraupidae*) y otra de *Mionectes oleaginea* (*Tyrannidae*) (25,27).

Posteriormente otros cinco aislamientos a partir de aves silvestres fueron obtenidos siendo uno de *Cacicus cela* (*Icteridae*), dos de *Phlegopsis nigromaculata* (*Formicariidae*), uno de *Thamnophilus aethiops* (*Formicariidae*) y una de *Formicariidae Sp* (Cuadro 4).

Estudios serológicos realizados con 11,643 plasmas de aves obtenidos de 277 especies, mostraron que por lo menos 33 especies presentaron anticuerpos específicos para el agente en cuestión (tasa global de 1.3%). Así mismo se tomó ese valor porcentual como valor de corte, con lo que se postula que 23 especies pueden ser consideradas hospederas potenciales. En efecto, las aves pertenecientes a la especie *Thamnophilus aethiops* presentaron una tasa de infección del 4%, sugiriendo que las mismas pueden desempeñar un importante papel en el ciclo de mantenimiento así como en la diseminación del mismo. De las otras especies de que hemos aislado EEE, las tasas de infección fueron menores o iguales a 0.5%. Por otro lado, es posible su existencia en otros hospederos vertebrados que no sean aves. Se encontró poca evidencia de la participación de marsupiales o de roedores silvestres de los cuales se obtuvieron dos aislamientos de cada uno. Además, se aislaron de cuatro especies de reptiles *Tropidurus hispidus* (*Iguanidae*) (30).

El *Culex Melanoconion pedroi* (*Culex taeniopus*) es reconocido como vector enzoótico de EEE para Brasil y Trinidad (13,25). En la Amazonia, de las 40 cepas aisladas de EEE a partir de lotes de artrópodos, 21 fueron procedentes de esta especie. Los demás lotes de artrópodos infectados pertenecían a otras especies (Cuadro 5). Se aislaron además 97 cepas de EEE de animales centinelas (25 de pintos, 58 de ratones y 14 de monos) casi siempre provenientes de la floresta de APEG (Cuadro 6).

D. ENCEFALITIS EQUINA DEL OESTE (EEO)

Antigénicamente el virus de la EEO pertenece al grupo A de los arbovirus. En el sistema universal de clasificación de los virus, el agente está incluido en el género *Alfavirus* (13). Causa una meningoencefalitis aguda en equinos y en el hombre (19). En América del Sur el virus ha sido aislado en Argentina, Brasil, Guyana, Ecuador y Uruguay donde es responsable de una pequeña morbilidad equina (3,13,19,27). Los casos humanos asociados han sido raros o ausentes. La EEO no ha sido aislada en América Central donde los datos serológicos también indican que las infecciones humanas son raras (18,23).

En la Amazonia de Brasil, el virus de la EEO fue aislado por primera vez en 1964 (13,27) de sangre de un ave silvestre de la especie *Myrmotherula hauxwelli* (*Formicariidae*). Otros cinco aislamientos fueron obtenidos de esos vertebrados (Cuadro 7). Sus vectores son tanto diurnos (*Aedes fulvus*) como nocturnos (*Culex portesi* y *Cx. pedro*). Las aves quedan accesibles a los mosquitos ornitófilos durante sus vuelos tanto de día como de noche (9).

Se encontraron tasas de anticuerpos por IH, confirmados por neutralización, de alrededor del 14% en 72 especies de aves residentes en la floresta, pero no en aves de campo, ni en roedores o en marsupiales (13,19). Entre las especies de aves con aerología positiva se destaca la *Pithys albifrons* (*Formicariidae*) que de 196 plasmas probados, 112 presentaron respuesta específica para el EEO (57.1% de positividad). Esas aves fueron encontradas en gran cantidad en la región de Cachoeira Porteira y el Puerto Trombetas (Municipio de Oroiximiná, Pará), lo que nos permite suponer que la misma debe desempeñar un importante papel en el ciclo epidemiológico de mantenimiento de EEO. Entre las otras especies cuyos plasmas reaccionaron con el virus EEO, la tasa media de infección fue del 5.1%. Tomándose arbitrariamente ese valor, y admitiéndose que sean buenos hospederos las aves con serología positiva mayor o igual al 5.1%, tenemos que 28 diferentes especies de aves silvestres pueden tener importante participación en el ciclo de la EEO (30). Dentro de estas figuran las especies *Hylophylax poecilonota* (*Formicariidae*), *Corythopsis torquata* (*Tyrannidae*) y *Phlegopsis nigromaculata* (*Formicariidae*) de las cuales ya se aisló el EEO.

E. ENCEFALITIS DE SAN LUIS (ESL)

En Brasil el virus fue aislado por primera vez en 1960 a partir de un grupo de 35 mosquitos *Sabethes belisarioi* capturados en las florestas del km 94 de la carretera Belem Brasilia. En el período de 1960 a 1992 se obtuvieron 128 aislamientos del virus ESL en la Amazonia, la mayoría, a partir de artrópodos, aves silvestres y en pollos centinelas (28).

El virus ESL causa una enfermedad aguda en el hombre, con un espectro de manifestaciones clínicas que varía desde un síndrome febril hasta meningoencefalitis mortal; pero al contrario de otros virus mencionados anteriormente no es patógeno para los equinos. El virus ESL es miembro del grupo serológico B de los Arbovirus, género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae* (13).

Los casos humanos muy esporádicos confirmados en América Central (Panamá), América del sur (Argentina) y el Caribe (Trinidad) exhibieron apenas un cuadro febril, aunque se ha confirmado la ocurrencia de un caso con manifestaciones

neurológicas en Jamaica (9,15,16,20,22,27). En Brasil, los dos únicos pacientes de los cuales se consiguió aislar el ESL residen en la amazonia y presentaron cuadros clínicos atípicos, caracterizados por la presencia de fiebre e ictericia. Uno de los pacientes sufría de leucemia, siendo posible que ésta haya originado la ictericia. El curso del cuadro fue mortal, tres días después se aisló el virus de su sangre periférica. En cuanto al otro caso, que presentó evolución benigna, a pesar de los esfuerzos para determinar si había un proceso concomitante responsable de la ictericia, no se halló ninguno (20,22). También se diagnosticó a través de la demostración de seroconversión en suero, una infección benigna causada por el ESL en un niño de 7 años nativo de Belem. Se encontraron anticuerpos IH y neutralizantes para el agente en cuestión en varios de sus familiares, inclusive un menor de 3 años de edad, todos igualmente nativos de la ciudad (20). La prevalencia de anticuerpos IH en la población humana varía de 1 a 5% en ciudades de la Amazonia de Brasil.

El ciclo de mantenimiento del ESL (Figura 3) parece ser esencialmente un ciclo de tipo Aves-mosquitos. Además de los numerosos aislamientos a partir de aves (Cuadro 8) más de 50 especies presentan anticuerpos específicos para el ESL en porcentaje significativo; diversas cepas fueron obtenidas de mosquitos *Culex declarator* y *C. coronator*, ambas especies fuertemente ornitófilas pero también primatófilas (Cuadro 9). Cuatro epizootias causadas por el ESL en esa área involucraron a aves silvestres y a monos centinelas, teniendo a estos mosquitos como vectores. El paso del virus para otros mamíferos (incluyendo al hombre) es relativamente frecuente. A ese nivel del ciclo podrían intervenir otros vectores tales como *Aedes*, *Mansonia* y *Sabethes* cuyas preferencias tróficas son más diversas. Así, existen ciclos secundarios ciertamente en diferentes niveles de la floresta en los que participan roedores, marsupiales, desdentados, reptiles y monos de copa.

La existencia de un ciclo urbano epidémico "hombre-mosquito" todavía no ha sido evidenciado en la Amazonia aunque parece poco probable en función a los resultados actuales (9).

REFERENCIAS

1. Alice, F.J.: Infecção humana pelo virus leste de encefalite equina. Bol. Inst. Biol. Bahia, 3:3-9, 1956.
2. Calisher, C.H., Kinney, R.M., López, O.S., Trent, D.W., Monath, T.P. and Fancy, D.B.: Identification of a new venezuelan equine encephalitis virus from Brazil. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 31:1260-1272, 1982.

3. Calisher, C.H., Monath, T.P., Mitchel, C.J., Sabbattini, M.S., Cropp, C.B., Kerschner, J., Hunt, A.R. and Lazuick, J.S.: Arbovirus investigations in Argentina, 1977-1980. III. Identification and characterization of viruses isolated, including new subtypes of western and venezuelan equine encephalitis viruses and four new Bunyaviruses (Las Maloyas, Resistencia, Barranqueras and Antequera). *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 34:956-965, 1985.
4. Casals, J.: Antigenic variants of eastern equine encephalitis virus. *J.Exp. Med.*, 119:229-232, 1964.
5. Causey, O.R., Causey, C.E., Maroja, O.M. and Macedo, D.G.: The isolation of arthropod-borne viruses, including members of two hitherto undescribed serological groups in the Amazon Region of Brazil. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 10:227-249, 1961.
6. Causey, O.R., Shope, R.E., Suttmoller, P. and Laemmert, H.: Epizootic eastern equine encephalitis in the Bragança Region of Pará, Brazil. *Rev. Serv. Esp. Saúde Públ.*, 12 (1): 39-45, 1962.
7. Causey, O.R. and Theiler, M.: Virus antibody on sera of residents of the Amazon Valley in Brazil. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 7:36-41, 1958.
8. Floch, H., Boulan, S. et Barrat, R.: Encephalomyélite à virus de Saint-Louis en Guyane Française. *Arch. Inst. Pasteur Guyane Franc.*, 18 (431):1-5, 1957.
9. Herve, J.P., Degallier, N., Travassos Da Rosa, A.P.A., Pinheiro, F.P. y Sa Filho, G.L.: Arboviroses, aspectos ecológicos. In: Instituto Evandro Chagas 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical. Belém. Fundação Serviços de Saúde Pública, V. 1, p. 409-437, 1986.
10. Iversson, L.B., Travassos Da Rosa, A.P.A., Travassos Da Rosa, J.F.S., Pinto, G.H. y Macedo, O.: Estudos sorológicos para pesquisa de anticorpos de arbovirus em população humana da região do Vale do Ribeira. IV. Inquérito em escolares residentes no município de Iguape, SP (Brasil). *Rev. Saúde Públ. (S. Paulo)*, 17:423-425, 1983.
11. Iversson, L.B., Travassos Da Rosa, A.P.A., Rodrigues, S.G. and Rosa, M.D.B.: Human disease caused by Venezuelan equine encephalitis subtype IF in Ribeira Valley, Sao Paulo, Brazil. 39th Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (Abstract) p.143. New Orleans, USA, 1990.

12. Jonkers, A.H., Downs, W.G., Spence, L. and Aitken, T.H.G.: Arthropod-borne encephalitis viruses in Northern South America. II. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 14:304-308, 1965
13. Karabatsos, N. (ed.): *International Catalogue of Arboviruses and certain other viruses of vertebrates*. 3rd ed. San Antonio, USA, The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1985.
14. López, O.S., Rocio (ROC) strain: SP H 34675. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 27:418-419, 1978.
15. Luby, J.P.: St. Louis Encephalitis. *Epidem. Rev.*, 1:55-73, 1979.
16. Methler, N.E. and Casals, J.: Isolation of St. Louis encephalitis virus from man in Argentina. *Acta Virol.*, 15:148-154, 1971.
17. Mitchell, C.J., Monath, T.P., Sabbatini, M.S., Daffner, J.F., Cropp, C.B., Calisher, C.H., Darsie, R.F. and Jakob, W.L.: Arbovirus isolations from mosquitoes collected during and after the 1982-1983 epizootic of western equine encephalitis in Argentina. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 36:107-113, 1987.
18. Monath, T.P.: Arthropod-borne encephalitides in the Americas. *Bull World Health. Org.*, 57:513-533, 1979.
19. Olitsky, P.K. and Casals, J.: Arthropod-borne group A virus infections of man. In: Rivers, T.M. and Horsfall, F.L. *Viral and rickettsial infections of man*. 3rd ed., p. 286-304, Philadelphia, Lippincott, 1959.
20. Pinheiro, F.P., LeDuc, J.W., Travassos Da Rosa and Leite, O.F.: Isolation of St. Louis encephalitis virus from a patient in Belém, Brazil. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 30:145-148, 1981.
21. Pinheiro, F.P. and Travassos Da Rosa, A.P.A.: Mucambo fever. In: Beran, (editor) *Handbook Series in Zoonosis: Viral zoonosis, Arboviral Zoonosis in South America*. 2nd ed., In Press.
22. Pinheiro, F.P., Travassos Da Rosa, A.P.A., Freitas, R.B., Travassos Da Rosa, J.F.S. y Vasconcelos, P.F.C.: Arboviroses, aspectos clínico-epidemiológicos. En: *Instituto Evandro Chagas: 50 años de contribuições as ciencias biológicas e à medicina tropical*. Belém, Fundação Serviços de Saúde Pública, . v.1, p. 375-408, 1986.

23. Scherer, W.F., Dickerman, R.W. y Ordóñez, J.V.: Encuestas serológicas para determinar la presencia de anticuerpos contra arbovirus de la encefalitis del este, el oeste, California y San Luis, y del dengue 3 en Mesoamérica, 1961-1975. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 87:210-223, 1979.
24. Serie, C., Fauran, P. et Pilo-Moron, P.: Présence de l'encéphalite de Saint-Louis en Guyane Française. *Med. Mal. Infect.*, 3:7-9, 1973.
25. Shope, R.E., Andrade, A.H.P., Bensabath, G., Causey, O.R. and Humphrey, P.S.: The epidemiology of EEE, WEE, SLE and Turlock viruses, with special reference to birds in a tropical rain forest near Belém, Brazil. *Amer. J. Epidem.*, 84:467-477, 1966.
26. Shope, R.E., Causey, O.R, Andrade, A.H.P. and Theiler, M.: The Venezuelan equine encephalitis complex of group A arthropod-borne viruses, including Mucambo and Pixuna from the Amazon Region of Brazil. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 13:723-727, 1964.
27. Theiler, M. and Downs, W.G.: The arthropod-borne viruses of vertebrates. New Haven, Yale University Press, p. 1-578, 1973.
28. Travassos Da Rosa, J.F.S., Freitas, E.N., Travassos Da Rosa, A.P.A. y Pinheiro, F.P.: Epidemiologia do virus da encefalite de S. Luis na Amazonia. In: *Simp. Intern. Arbov. Febres Hemorrágicas. (Anais)*, Belém, 1981. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, p. 375-383, 1982.
29. Trent, D.W., Clewley, J.P., France, J.K. and Bishop D.H.L.: Immunochemical and oligonucleotide fingerprint analyses of venezuelan equine encephalitis complex viruses. *J. gen. Virol.*, 43:365-381, 1979.
30. Vasconcelos, P.F.C., Travassos Da Rosa, J.F.S., Travassos Da Rosa, A.P.A., Degallier, N., Pinheiro, F.P. y Sa Filho, G.C.: Epidemiologia das encefalites por arbovirus na Amazonia brasileira. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 33:465-467, 1991.
31. Walton, T.E. and Grayson, M.A.: Venezuelan equine encephalitis. In: Monath, T.P. *The arboviruses: Epidemiology and ecology*, v. 4 p, 203-231, CRC Press, Boca Raton, USA, 1989.

FIG. 1 PROBABLE CICLO BIOLÓGICO DE MANTENIMIENTO DEL VIRUS MUCAMBO EN LA AMAZONIA DE BRASIL (HERVE Y COL. 1986)

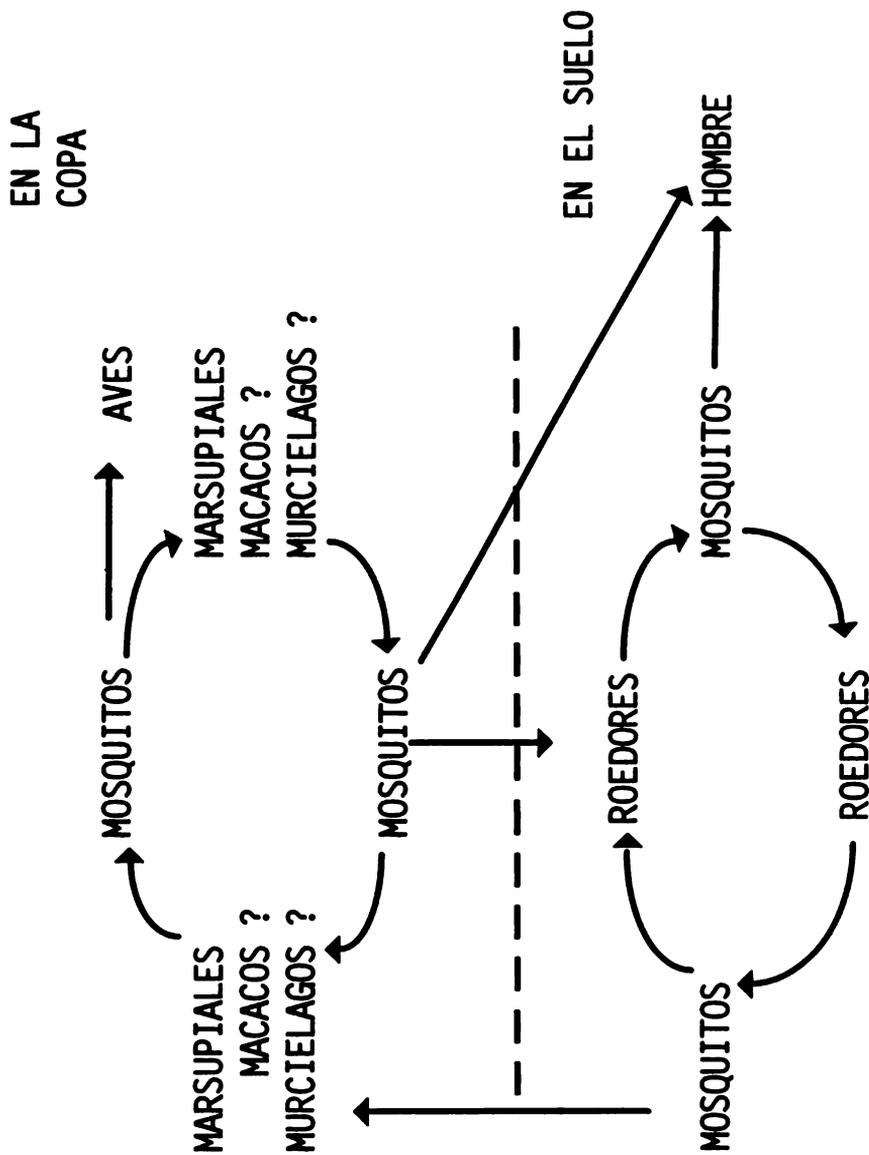


FIG. 2 PROBABLE CICLO BIOLÓGICO DE MANTENIMIENTO DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA DEL ESTE (EEE) EN LA AMAZONIA DE BRASIL (HERVE Y COL. 1986).

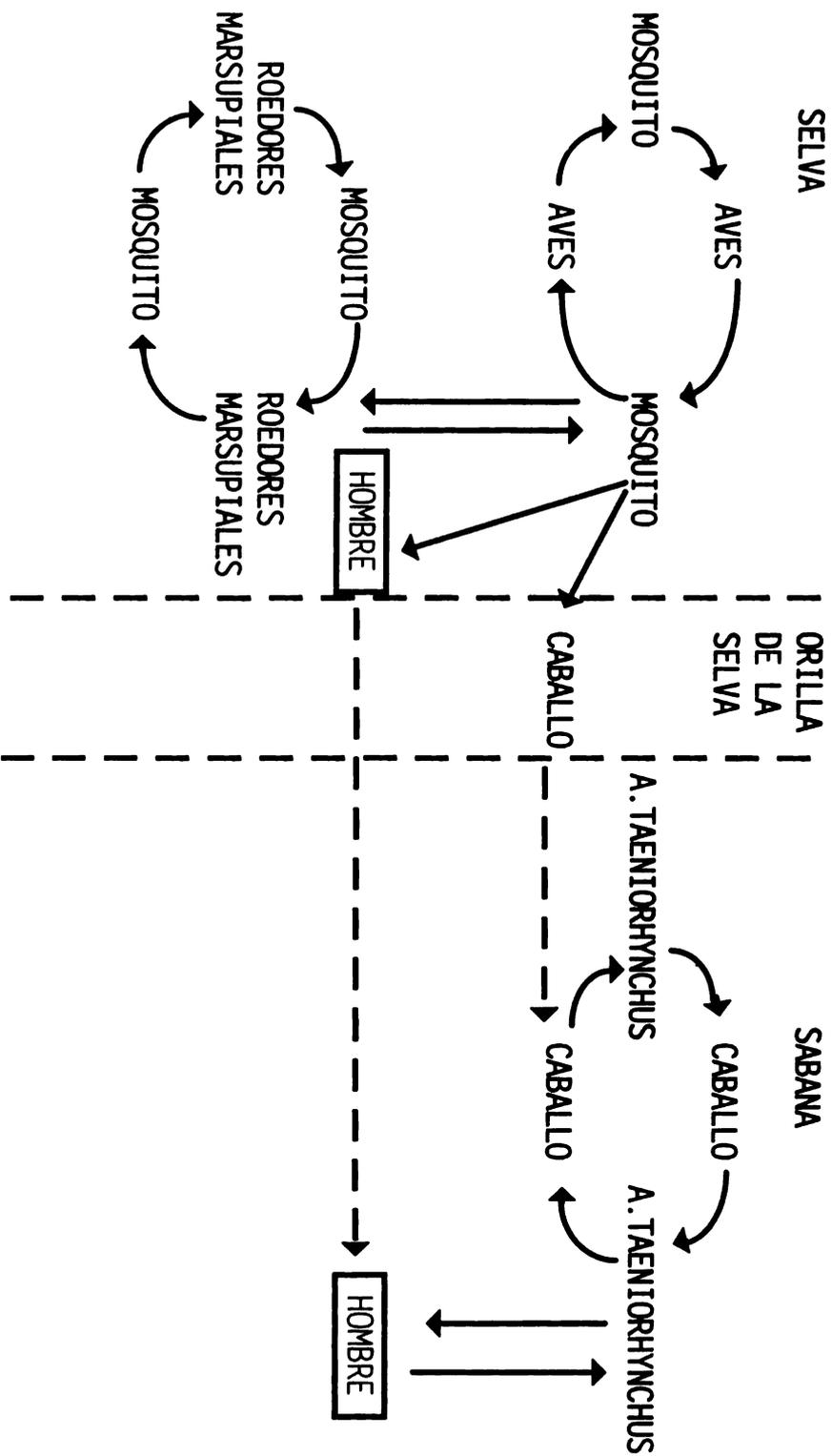
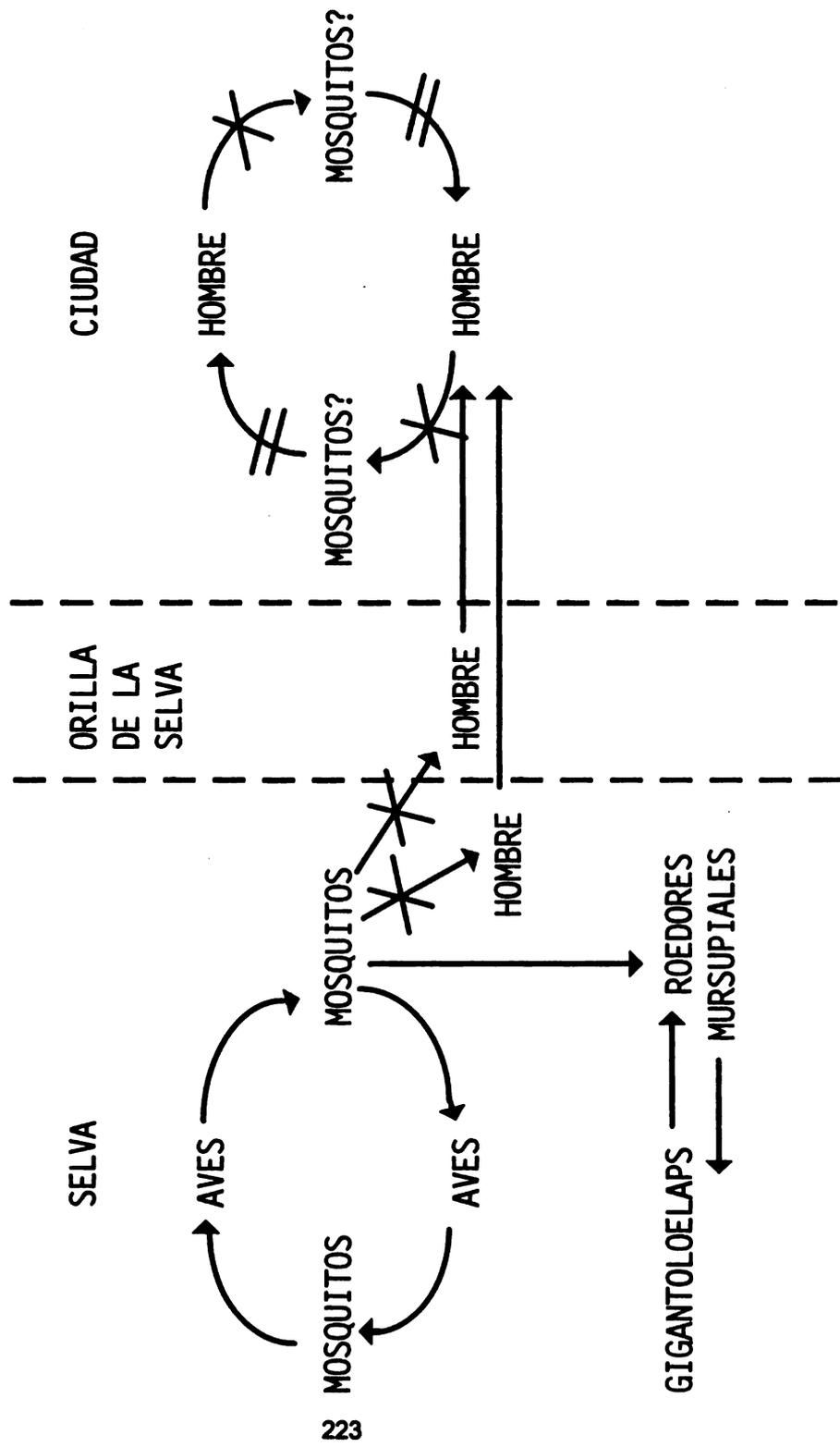


FIG. 3 PROBABLE CICLO BIOLÓGICO DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS DE SAN LUIS (ESL) EN LA AMAZONIA DE BRASIL (HERVE Y COL. 1986)



CUADRO 1. ARBOVIRUS RESPONSABLES DE LAS ENCEFALITIS EN LAS AMERICAS

VIRUS	ABREVIATURA	GRUPO ANTIGENICO	VECTOR
Encefalitis Equina del Este	EEE	A	Mosquito
Encefalitis Equina del Oeste	EEO	A	Mosquito
Encefalitis Equina Venezolana	EEV*	A	Mosquito
Encefalitis de California	EC	California	Mosquito
Encefalitis de San Luis	ESL	B	Mosquito
Rocio	ROC	B	Mosquito
Powassan	POW	B	Garrapata

* Tiene 6 subtipos

CUADRO 2. VIRUS DEL COMPLEJO EEV. CLASIFICACIÓN ANTIGÉNICA, ORIGEN GEOGRÁFICO Y FECHA DE AISLAMIENTO

SUBTIPO	VARIEDAD	CEPA	ACTIVIDAD	ORIGEN	FECHA
I EEV*	A	Tr.D	Epizootica	Trinidad	1943
	B	PTF 39	Epizootica	Guatemala	1969
	C	P-676	Epizootica	Venezuela	1963
	D	3880	Enzoótica	Panamá	1961
	E	MENA-II	Enzoótica	Panamá	1962
	F	78V3531	Enzoótica	Brasil	1976
II EVERGLADES	-	Fe-3-7c	Enzoótica	Estados Unidos	1963
III MUCAMBO	A	BE AN 8	Enzoótica	Brasil	1954
	B	CA AN 410d	Enzoótica	Guyana Francesa	1973
	C	71D-1252	Enzoótica	Perú	1971
IV PIXUNA	-	BE AR 35645	Enzoótica	Brasil	1961
V CABASSOU	-	CA AR 508	Enzoótica	Guyana Francesa	1968
VI	-	AG 80-663	Enzoótica	Argentina	1977-1980

EEV = Encefalitis Equina Venezolana

CUADRO 3. AISLAMIENTO DEL VIRUS MUCAMBO EN LA AMAZONIA PROCEDENTES DE VERTEBRADOS SILVESTRES Y MOSQUITOS DE ACUERDO CON FUENTE, ESPECIE, LOCALIZACION, FECHA Y MATERIAL DE OBTENCION (1955-1989)

FUENTE	ESPECIE	AÑO	MATERIAL	TOTAL	
Marsupiales	<i>Metachirus nudicaudatus</i>	1962	sangre, visceras	2	
	<i>Caluromys philander</i>	1966	sangre	1	
	<i>Caluromys sp</i>	1970	sangre	1	
Aves silvestres	<i>Pipra erythrocephala</i>	1965	sangre	1	
Roedores	<i>Nectomys squamipes</i>	1965	sangre	1	
	<i>Oryzomys capito</i>	1963	sangre	9	
		1964	sangre	2	
		1965	sangre, orina	2	
		1968	sangre	4	
		1969	sangre	4	
		1970	sangre	2	
		1973	sangre	2	
		1975	sangre	1	
		<i>Proechimys guyannensis</i>	1955	sangre	1
			1959	sangre	1
			1962	sangre	1
			1964	sangre	1
			1966	sangre	2
			1969	sangre	3
		1970	sangre	1	
		1974	sangre	1	
Mosquitos	<i>Aedes serratus</i>	1955		1	
	<i>Coquilletidia venezuelensis</i>	1964		1	
	<i>Culex (Culex) sp</i>	1961		1	
		1963		2	
		1965		3	
		<i>Culex portesi</i>	1961		4
			1966		3
			1968		1
			1969		1
		<i>Culex (Melanoconion) sp</i>	1961		3
			1969		1
		<i>Haemagogus sp</i>	1955		1
		<i>Mansonia (Mansonia) sp</i>	1965		1
	<i>Sabethes sp</i>	1955		2	
Total				68	

CUADRO 4. AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA EEE A PARTIR DE AVES SILVESTRES DE ACUERDO CON LA FAMILIA, ESPECIES, LOCALIZACION Y FECHA DE OBTENCION DE LA AMAZONIA ENTRE LOS AÑOS DE 1955 A 1989

FAMILIA	ESPECIE	LOCAL	AÑO	TOTAL
Tyrannidae	<i>Mionectes oleaginea</i>	APEG-Belém-PA *	1963	1
Thraupidae	<i>Ramphocelus carbo</i>	APEG-Belém-PA	1963	1
Formicariidae	<i>Phlegopsis nigromaculata</i>	APEG-Belém-PA	1969	1
	<i>Thamnophilus aethiops</i>	Humaitá-AM **	1974	1
	<i>Phlegopsis nigromaculata</i>	Tucuruí-PA	1983	1
	<i>Formicariidae</i> sp.	Carajás-PA	1983	1
	<i>Cacicus cela</i>	APEG-Belém-PA	1968	1

* Area de Investigación Ecológica de Guamá

** Carretera Transamazónica (BR 230) km 969

CUADRO 5. AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA EEE A PARTIR DE MOSQUITOS DE ACUERDO A LA ESPECIE Y FECHA DE OBTENCION (1955-1989)

ESPECIE	AÑO										Total
	1960	1963	1965	1966	1967	1968	1969	1975	1978	1985	
<i>Aedes (Ocheteratus) fulvus</i>									1		1
<i>Aedes (Och.) taeniorhynchus</i>	3										3
<i>Culex (Culex) sp</i>		4	3	2						3	12
<i>Culex (Melanoconiom) sp</i>		1									1
<i>Culex (Mel.) spissipes</i>		1									1
<i>Culex (Mel.) pedroi</i>		6	1	5	2	5	1	1			21
<i>Mansonia (Mansonia) sp</i>					1						1
Total	3	12	4	7	3	5	1	1	1	3	40

CUADRO 6. AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA EEE EN LA AMAZONIA DE BRASIL DE ACUERDO A LA FECHA DE AISLAMIENTO Y SU FUENTE DE OBTENCION (1955-1989)

FUENTE	AÑO (1955-1986)													Total						
	55	56	57	59	60	63	64	65	69	67	68	69	71		74	75	77	78	83	85
Artrópodos					3	12	1	8	2	3	5	1		1	1		1		3	40
Aves silvestres			2			2						1	1					2		8
Ratones centinelas *			2	6	9	5	8	7	9	10	2									68
Macaco centinela **	4	4	2		2							1			1					14
Pinto centinela					1	1	1	1	6	4	8	1	2	1						26
Equinos							2													2
Marsupiales					1		1													2
Repriles							4													4
Rododores									2											2
Total	4	4	2	4	11	27	6	24	10	18	19	12	2	3	2	1	1	2	3	155

* Trabajos interrumpidos en 1975

** Trabajos interrumpidos en 1976

CUADRO 7. AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA EEO EN LA AMAZONIA DE BRASIL A PARTIR DE AVES SILVESTRES Y MOSQUITOS DE ACUERDO CON LA FAMILIA, ESPECIE, LOCALIDAD Y FECHA DE OBTENCIÓN (1964-1989)

ORIGEN	FAMILIA	ESPECIE	AÑO	TOTAL
Aves silvestres	Formicariidae	<i>Myrmotherula huxwelli</i>	1964	1
		<i>Pyriglena leuconota</i>	1969	1
		<i>Conopophaga aurita</i>	1973*	1
		<i>Hylophylax poeclionota</i>	1976**	1
		<i>Phlegopsis nigromaculata</i>	1983	1
		<i>Corythopsis torquata</i>	1976**	1
Mosquitos	Culicidae	<i>Aedes fulvus</i>	1979	1
		<i>Culex pedroi</i>	1973*	1
		<i>Culex portesi</i>	1966	1
Ratón centinela			1966	1
Total				10

* Carretera Transamazónica (BR 230) km 212

** Carretera Santarém-Cuiabá (BR 163) km 217

CUADRO 8. AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA ESL EN LA AMAZONIA DE BRASIL A PARTIR DE AVES SILVESTRES DE ACUERDO CON LA FAMILIA, ESPECIE, LOCALIDAD, FECHA Y MATERIAL DE OBTENCION (1960-1989)

FAMILIA	ESPECIE	AÑO	MATERIAL	TOTAL
Formicariidae	<i>Myrmotherula hauxwelli</i>	1964	Sangre	1
	<i>Formicarius analis</i>	1969	Sangre	1
	<i>Pyriglena leuconota</i>	1969	Sangre	2
	<i>Thamnomanes caesius</i>	1971	Sangre	1
	<i>Hylophylax poecilonota</i>	1973	Sangre	2
	<i>Hypocnemis cantator</i>	1982	Sangre	1
		1984	Visceras	1
	<i>Conopophaga aurita</i>	1984	Visceras	1
Pipridae	<i>Chiroxiphia pareola</i>	1969	Sangre	2
	<i>Pipra pipra</i>	1969	Sangre	1
Columbidae	<i>Columbina talpacoti</i>	1964	Sangre	1
	<i>Geotrygon montana</i>	1974	Sangre	2
Furnariidae	<i>Automolus infuscatus</i>	1964	Sangre	1
	<i>Phylidor erythrocerus</i>	1984	Visceras	1
Tyrannidae	<i>Myobius barbatus</i>	1971	Sangre	2
Galbulidae	<i>Galbula albirostris</i>	1968	Sangre	1
Bucconidae	<i>Malacoptila rufa</i>	1971	Sangre	1
Dendrocolaptidae	<i>Glyphorhynchus spirurus</i>	1974	Sangre	1
Fringillidae	<i>Saltator maximus</i>	1984	Sangre	1
No identificada	-	1970	Sangre	1
				25

CUADRO 9. AISLAMIENTOS DEL VIRUS DE LA ESL EN LA AMAZONIA DE BRASIL A PARTIR DE ARTROPODOS, DE ACUERDO CON LA ESPECIE Y LAS PROCEDENCIA (1960-1989)

ESPECIES	BELEM*	BRO10*	TUCURUI	ALTAMIRA	OTRAS AREAS	TOTAL
<i>Aedes fulvus</i>	1					1
<i>Aedes serratus</i>				1	2	3
<i>Culex</i> sp.					1	1
<i>Culex (Culex)</i> sp.	3		3	1	2	9
<i>Culex coronator</i>	3		1	1		5
<i>Culex declarator</i>	10		6	1	1	18
<i>Culex portesi</i>	1					1
<i>Culex spissipes</i>	1					1
<i>Culex</i> sp. B19	1					1
<i>Gigantolaelaps</i> sp		1				1
<i>Mansonia pseudotitillans</i>	1					1
<i>Sabethes belisarioi</i>		1				1
Total	21	2	10	4	6	43

* Floresta de APEG

** Carretera Belém-Brasilia

XIV. LA EXPERIENCIA VENEZOLANA CON LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Pedro Ramos, Noris Plaza, Nelson Pérez, Magaly Novell

A. Introducción	233
B. Brotes en Venezuela de 1937 a 1973	235
1. Antecedentes	235
2. Prevención y control por medio de la vacunación	237
C. El brote en Venezuela en 1995	238
1. Consideraciones sobre la epizootia	240
2. Estrategia de vacunación	241
Referencias.....	242

A. INTRODUCCIÓN

La Encefalitis Equina Venezolana (EEV) es una enfermedad viral, zoonótica, transmitida por artrópodos hematófagos cuya incidencia ocurre en forma cíclica y estacional y afecta a los equinos, humanos o aves de acuerdo al virus actuante.

El agente etiológico pertenece al género *Alfavirus*, familia *Togaviridae*, dentro de los cuales se encuentran además del de la EEV, los virus responsables de la Encefalitis Equina del Este (EEE) y la Encefalitis Equina del Oeste (EEO). El virus *Highlands* ha sido reportado únicamente en el este de los Estados Unidos y se ha asociado a casos de encefalitis en equinos (10).

El virus tiene envoltura, es de estructura icosaédrica y el ARN es de cadena simple con polaridad positiva (2). Al complejo EEV se le han identificado trece miembros distribuidos en seis subtipos (15).

La mayoría de los miembros o variedades antigénicas corresponden a las llamadas variantes enzoóticas y no equicidas; tienen un ciclo de transmisión enzoótico, discreto entre roedores y/o aves y mosquitos, que se desarrollan en el ambiente silvestre del bosque húmedo tropical. Los casos que se puedan presentar en humanos por estas variantes son eventuales, cuando la persona se introduce en el nicho ecológico donde el virus está circulando. En los équidos, estas variantes pueden causarle una viremia discreta con desarrollo de anticuerpos, sin ocasionar enfermedad y muerte. Por otro lado, las variantes antigénicas epizooticas son las responsables de las epizootias naturales en los équidos y de las epidemias

humanas con altas tasas de morbilidad y mortalidad. Los equinos son los grandes amplificadores del virus al desarrollar viremias muy altas y los humanos sólo son huéspedes terminales, sin importancia epidemiológica en la cadena de transmisión. Muchas especies de mosquitos hematófagos están involucrados en la rápida dispersión del brote durante las epizootias de EEV (Cuadro 1).

Los mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Deinocerites*, *Mansonia* y *Psorophora* son vectores muy eficientes en la transmisión de la EEV epizoótica.

El estallido de epizootias y de epidemias de EEV, es favorecido por la acumulación de animales susceptibles en presencia del virus circulando en la naturaleza, ayudado por las condiciones ambientales de viento, temperatura y lluvias que aumentan el número de mosquitos vectores.

La progresión geográfica de las epidemias se detiene al cesar la estación de lluvias y puede o no recomenzar en la misma estación, a partir del área donde había cesado el año anterior (13).

En los humanos el período de incubación varía de dos a cinco días. La sintomatología puede ir desde fiebre indiferenciada similar a la influenza, hasta casos graves de encefalitis. En la mayoría de los casos se presenta un cuadro febril súbito, con malestar, escalofríos, cefalalgia, mialgia, náusea, vómito y diarrea. El curso de la enfermedad puede ser de uno a cuatro días o más, con mayor susceptibilidad en las edades extremas, observándose una tasa de letalidad de 0.2 al 1 % de los casos clínicos y una tasa de ataque de alrededor del 10% de la población afectada (1).

La EEV en los équidos tiene un período de incubación de uno a tres días, dependiendo de la cepa y la cantidad de virus inoculado. Se puede presentar un cuadro febril benigno de uno a dos días, con anorexia, depresión, ligera leucopenia y baja o nula viremia; en cuatro a ocho días aparecen anticuerpos neutralizantes. En otros casos, la enfermedad se presenta como un cuadro febril agudo, con depresión profunda, anorexia pronunciada, pérdida de peso, rechinar de dientes, leucopenia y viremia alta. Los miembros están separados, la cabeza la apoyan en objetos, hay postración y excitación como cuadro característico de encefalitis. Existe dificultad visual y caminan en círculos. La letalidad varía del 30 al 80% y la morbilidad puede variar del 10 al 100%.

B. BROTES EN VENEZUELA DE 1937 A 1973

1. Antecedentes

Desde el punto de vista clínico los primeros reportes fueron realizados por el Dr. Kubes en 1936 y 1937 quién señaló que la enfermedad apareció en Colombia en 1935 en los Departamentos del Valle, Tolima, Huila y Bolivar, en donde se conocía como enfermedad de Borna (5,6). Gallo y Vogalsang establecieron la relación de la aparición de la enfermedad con el comienzo de las lluvias (3).

En Venezuela los primeros casos fueron descritos por técnicos al servicio del Ministerio de Agricultura y Cría (MAC) en 1930, año en que la enfermedad alcanzó caracteres alarmantes, pues invadió casi toda la República. Los síntomas observados correspondieron a los cuadros descritos bajo la denominación de:

1) Forma encefálica pura, muy rara, de principio brusco y marcha aguda; sus síntomas varían ligeramente según los casos y en grados variables se entremezclan los síntomas medulares.

2) La forma mielínica o parálitica, más frecuente que la anterior, caracterizada por bostezos prolongados con movimientos laterales de la mandíbula, trillamiento de dientes, tristeza y tambaleo, continencia de orina y retardo en la defecación.

3) La forma mixta mucho más frecuente, es una mezcla de todos los síntomas descritos anteriormente (13).

En 1938, a raíz de la epizootia que afectó a casi todo el país, Kubes y Ríos aislaron e identificaron al agente causal, determinando su diferencia con los virus del Este y Oeste. Comprobaron la susceptibilidad del embrión de pollo lo cual sentó las bases para el desarrollo de una vacuna, cuyo valor inmunizante superó ampliamente al obtenido con la vacuna bivalente empleada en ese momento (11).

Posteriormente, la enfermedad tuvo carácter esporádico en Colombia pero en Venezuela se mantuvo la vigilancia epidemiológica. Cuando apareció un brote de EEV en 1942 que afectó la zona limítrofe con Venezuela, se donó la vacuna a los criaderos de equinos colombianos. A pesar de esta medida, se presentaron brotes en la Guajira Venezolana lo que determinó que el MAC vacunara a todos los equinos del estado Zulia; sin embargo, la enfermedad se extendió por los estados Falcón, Lara y Trujillo. Se informó que al mismo tiempo ocurrió un brote de elevada morbilidad en el ganado caballar y asnal en la vecina isla de Aruba. En el período de agosto a octubre, la EEV se expandió de la zona central al este del país. En Trinidad, a pesar de las restricciones que se establecieron para la

importación de équidos, aparecieron casos el dos de octubre de ese mismo año; la opinión general fue que el amplio rango de vuelo del vector había propagado la enfermedad desde la costa Venezolana (17).

El país fue dividido en tres zonas: a) zona infectada donde ocurrieron focos, b) zona intermedia en donde se establecieron cordones sanitarios, y c) zona indemne o libre. En las dos primeras se trazaron estrategias que contemplaron la división del área en subzonas y la participación de personal profesional capacitado con apoyo de recursos humanos. Hubo prohibición de tránsito entre las zonas infectadas y la indemnes, estableciéndose alcabalas que velaban por el cumplimiento de esta medida. Asimismo, se prohibieron las coleadas y todos aquellos eventos que pudieran determinar la aglomeración de personas y équidos. Se crearon hospitales donde se aislaron a los animales enfermos, que en forma esporádica aparecieron en el cordón sanitario y se vacunaron a todos los équidos. La política sanitaria del momento contempló también la vacunación de los equinos del área libre. Se aplicaron en un período de tres meses 236,247 dosis, a pesar de que la lluvia provocaba caminos intransitables, ríos fuera de cauce, había aguas estancadas y una gran proliferación de insectos hematófagos (11).

Los organizadores de la campaña recomendaron: a) aplicar anualmente, en forma obligatoria y sistemática la vacuna en todos los équidos del país especialmente en los estados Zulia, Falcón, Lara, Trujillo y Yaracuy, b) la vacunación estratégica antes del período de lluvias, c) la concientización del sector ganadero para el establecimiento de los planes de vacunación, d) efectuar estudios de insectos a nivel rural para determinar su participación como vectores, e) disponer de una reserva de 120,000 dosis de vacuna renovándose en partidas de 10,000 dosis cada mes con objeto de garantizar el éxito de otra eventual campaña. De acuerdo a la experiencia y a nuestro período de lluvias, se estableció una ciclicidad viral de cada cuatro años. Las vacunaciones en forma oportuna en aquellas zonas en donde aparecieron brotes esporádicos, permitió controlar la EEV durante los años sucesivos. Sin embargo, con el tiempo fue disminuyendo la cobertura de vacunación lo que determinó que apareciera una población joven susceptible y la disminución de los niveles de anticuerpos vacunales en el rebaño equino; esto podría explicar el recrudecimiento de la epizootia durante 1962 (12) (Cuadro 2).

La epizootia de 1962 se inició en la Guajira Colombiana; tuvo especial importancia ya que involucró una alta incidencia de humanos, pues en un período de tres meses causó 3,000 casos con 20 muertes en Colombia y en sólo dos meses, 6,762 casos con 43 muertes en Venezuela (1). El virus se aisló de mosquitos *Aedes taeniorhynchus*, *Anopheles aquasalis*, *Aedes serratus* y *Psorophora confinis*, siendo la mayor proporción de infectados los primeros (16).

Los síntomas predominantes en humanos fueron hipertermia, conjuntivitis, cefalalgia intensa, faringoamigdalitis, vómito, diarrea; en algunos casos crisis de excitación, alucinaciones o bien somnolencia marcada; las convulsiones se presentaban en menores de siete años (14).

Muchos autores han señalado que la EEV tenía una periodicidad entre cinco y diez años, lo cual se cumplía en Venezuela y otros países del norte de América del Sur hasta 1973, cuando se presentó el penúltimo brote en la Guajira Venezolana (15).

2. Prevención y control por medio de la vacunación

El Instituto de Investigaciones Veterinarias jugó un papel preponderante en el control de la encefalitis equina que inició en Venezuela en 1938. Se elaboró un inmunógeno por medio de la inoculación intracerebral (IC) de cobayos de 250 a 300 gr, ratones adultos vía IC y huevos embrionados por vía alantoidea; el virus fue inactivado con formalina al 0.4%. En la Sección de Producción de Inmunobiológicos se produjeron 4,272,531 dosis que fueron utilizadas en Venezuela y otros países (Cuadro 2); esto fue posible debido a que los estudios inmunológicos de las cepas aisladas de la epizootia de 1942-1943, demostraron que el virus seguía siendo el mismo tipo de la cepa que fue aislada en 1938. Asimismo se comprobó que los virus aislados de animales procedentes de la Sabana de Bogotá y de la isla de Trinidad, no presentaban diferencias inmunológicas con el virus tipo Venezolano, por lo que la vacuna pudo ser utilizada con eficiencia tanto en Colombia como en Trinidad (Cita de Quiroz C., ref.11).

La dosis de vacuna se redujo a 1 ml por vía intradérmica en lugar de los 5 ml por vía subcutánea, como venía aplicándose desde 1938; sin embargo, se cuestionó su inocuidad puesto que se reportaron casos de animales que enfermaron después de la vacunación. No obstante, es preciso reconocer que se obtuvieron resultados aceptables con los millones de dosis administradas en caballos, mulos y burros de Venezuela, así como en Colombia, Ecuador, Perú y Centro América. Hubo sospechas de la patogenicidad de la vacuna pero no pruebas. Es importante tomar en cuenta la confianza que tuvieron en la vacuna los dueños de valiosos caballos de carrera, lo que justificó su aplicación durante muchos años; además, esto descartó que la vacuna fuera capaz de producir enfermedad y muerte de los equinos (9).

El uso de la vacuna atenuada TC-83 ha dado resultados muy satisfactorios en la inmunización de los equinos. La cepa de producción fue aislada del cerebro de un burro de Trinidad durante una epizootia de EEV, atenuándose mediante 83 pases

en células de corazón fetal de cobayo. Originalmente, el objetivo era inmunizar humanos y el 90% de los 6,000 que recibieron la vacuna a los 15 días desarrollaron anticuerpos, que se mantuvieron por un período prolongado. Un 25% presentó reacciones sistémicas severas con fiebre, mialgia y leucopenia. En los équidos se estima que la inmunidad se establece en tres a cuatro días y las reacciones sistémicas fueron raras con excepción de una fiebre pasajera. Los fracasos en las inmunizaciones fueron atribuibles a la labilidad de las vacuna por acción del calor, así como a la interferencia por anticuerpos de EEE y EEO. Debido a las reacciones indeseables que ocurren en el humano después de la aplicación de la vacuna TC-83 atenuada, así como a los problemas que presenta el manejo de las vacunas vivas, ha sido preferible usar la vacuna que emplea la cepa TC-83 inactivada (1)

C. EL BROTE EN VENEZUELA EN 1995

En el país no se habían registrado brotes de Encefalitis Equina Venezolana desde 1973. Durante casi 20 años hubo un silencio epidemiológico que fue interrumpido por un brote detectado en un estado andino (Trujillo), el cual empezó a finales del período de lluvia de 1992 y concluyó a comienzos de 1993. El agente causal identificado fue el virus de la EEV que pudo haberse establecido por los cambios realizados en la ecología de la zona, al producirse el llenado de un embalse allí existente. Se mencionó en esta epizootia la posible intervención de las aves en el ciclo de transmisión.

Debido al hecho de que los casos se sucedieron casi exclusivamente alrededor de este embalse, se facilitó la tarea del control del problema, utilizando vacuna inactivada monovalente de producción nacional. A pesar de la pronta vacunación de los equinos susceptibles la cantidad de animales muertos fue considerable.

A mediados de 1993, a comienzo del período de lluvias, se detectó otro brote de EEV en un área cercana a la Guajira Venezolana (Edo. Zulia). Hubo serología positiva a EEV pero no se logró el aislamiento del virus.

En esta zona por considerarse endémica, se recomendó la vacunación de los animales con vacuna de virus vivo modificado monovalente (EEV), cepa TC-83 importada de Colombia.

Luego de los dos eventos mencionados no se planificaron ni efectuaron medidas preventivas de vacunación en otras áreas de riesgo del país.

Durante 1995 y entre los meses de mayo a noviembre se reportó un brote de EEV en nueve entidades. El evento comenzó en los animales a partir del mes de mayo en la zona Centro Occidental, reportándose en esta área siete aislamientos del virus de la EEV y 29 casos por serología.

A los tres meses del comienzo de este brote, se presentó otro en el área Noroccidental (Edo. Zulia), muy cerca de la Guajira venezolana. Este brote fue diferente a los observados en otras oportunidades, pues ocurrió un gran número de casos en humanos con un porcentaje de positividad de 74.8% y fue esta área la más afectada por la epidemia (4). En animales se lograron dos aislamientos virales y hubo ocho serologías positivas, siendo menor a lo que por lo general se presenta en estos eventos.

Posteriormente apareció la enfermedad en équidos de un estado andino (Trujillo) situado al sureste del Edo. Zulia, donde se había presentado el último brote de EEV en 1992-1993. Allí se efectuaron dos aislamientos virales, hubo nueve casos por serología en equinos, y siete casos en humanos.

En esta misma oportunidad se extendió el brote hacia otros estados Centro Occidentales (Lara, Cojedes, Portuguesa), obteniéndose un total de nueve aislamientos virales de EEV y doce casos de serología.

En otro Estado situado en los llanos centrales se presentó un brote en que a diferencia de los demás, no se registraron casos en la población humana. Se realizaron cuatro aislamientos virales a partir de cerebros de equinos fallecidos por la enfermedad y sólo dos aislamientos a partir del suero sanguíneo; el porcentaje de positivos para esta región fue del 22.2% de aislamientos a partir de cerebros y 2.6% a partir de sueros (4).

Entre los meses de octubre a noviembre se detectó otro problema circunscrito a una área urbana (Carora, Lara) donde hubo un elevado número de casos humanos y un aislamiento viral en un équido. El porcentaje de positividad fue muy bajo.

Durante los brotes de 1995 el diagnóstico de las muestras humanas fue realizado en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" de Caracas y para el diagnóstico de muestras de animales, en el Instituto de Investigaciones Veterinarias (IIV) del FONAIAP, Maracay. Durante esta epizootia se recibieron en el IIV un total de 1,388 muestras de suero de équidos y 46 cerebros de animales fallecidos con sospecha de la enfermedad. De este total se realizaron 21 aislamientos virales a partir de muestras de suero (1.5% de positividad) y cuatro aislamientos a partir de muestras de cerebro (8.7% de positividad) (Cuadro 3; Mapa 1).

Para realizar estos diagnósticos se desarrollaron las técnicas de aislamiento viral, identificación mediante la prueba de fijación del complemento y la detección de anticuerpos por medio de la técnica de la inhibición de la hemoaglutinación (IH), de las inmunoglobulinas IgM por la técnica de reducción con 2-mercaptoetanol y así mismo se realizaron los diagnósticos diferenciales correspondientes (Cuadro 4).

1. Consideraciones sobre la epizootia

Es necesario resaltar que el bajo número de aislamientos virales detectados con relación a lo acontecido a nivel de campo, pudo originarse por fallas en la conservación de la muestra antes de llegar al laboratorio y por la etapa de la enfermedad en la cual fue tomada la muestra. El alto número de muestras consideradas negativas serológicamente también pudo deberse a la falta de envío de la segunda muestra de suero para el diagnóstico confirmatorio y por no contar con técnica diagnóstica de IgM por ELISA en suero colectado en fase aguda.

Por las características con las cuales se extendió el brote de EEV en Venezuela, se pudo deducir que estuvieron involucrados algunos aspectos que incidieron y definieron el mantenimiento y extensión del mismo. En primer lugar, el alto número de animales susceptibles que se encontraban en zonas enzoóticas y endémicas de encefalitis equina. Las características ecológicas correspondieron a bosque seco y muy seco tropical, montes espinosos, maleza desértica y bosque húmedo premontano. El clima varió de húmedo a semihúmedo y de semiárido a lluvioso cálido, así como de una altitud que iba entre 0 a 800 metros sobre el nivel del mar, lo que favoreció el mantenimiento de la enfermedad. Igualmente, es de hacer hincapié en otras variables que se asociaron a los factores ya mencionados, como fueron los vientos y la alta pluviosidad presentada en las zonas, lo cual favoreció la elevada población de mosquitos involucrados en el ciclo de transmisión.

Otro aspecto importante que condujo a la extensión del brote, fue la falta de un adecuado programa de vacunación luego del alerta presentado entre 1992 y 1993, unido al largo período de lluvia presentado en todo el país que aumentó en forma considerable a la población de vectores.

Otra enfermedad endémica en casi todas las entidades federales del país desde hace varios años ha sido el Dengue, la cual por su patogenicidad y similitud con la EEV, interfirió con el diagnóstico oportuno de esta última, con el agravante de haberse detectado casos de humanos afectados por las dos enfermedades.

Los organismos oficiales como el Ministerio de Agricultura y Crfa (MAC), Sistema Autónomo de Sanidad Agropecuaria (SASA) y Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS), junto a otros organismos como la OPS-OMS, IICA y Gobernaciones, Alcaldías y otros, unieron esfuerzos para la obtención de la vacuna necesaria e inmunizar a los equinos en las diferentes áreas afectadas; se planificó el área de alto riesgo como de primera prioridad y otras, de mediano y bajo riesgo, logrando así aumentar la cobertura de vacunación en todas las entidades del país.

2. Estrategia de la vacunación

Se estimó la población equina venezolana en 607,016 cabezas. En la primera etapa se vacunó la zona Centro Occidental considerada como área epidémica; en la segunda etapa se aplicó la vacuna en los llanos, estados andinos y en el centro y finalmente, en la tercera etapa se inmunizaron los estados orientales.

Debido a la presencia de brotes de EEV en varios estados del país, y a la carencia de suficientes dosis de vacunas nacionales para controlar los brotes, se procedió de emergencia a adquirir varios lotes de vacunas.

Como medida de seguridad todas las vacunas fueron sometidas al control de esterilidad, inocuidad, potencia y título infeccioso antes de proceder a su distribución y a la vacunación. Se usó vacuna de virus atenuado y vacunas inactivadas (mono y trivalentes) provenientes de los Estado Unidos, Colombia, México y de laboratorios venezolanos.

Las vacunas en su formulación incluían la cepa TC-83 y fueron aplicadas con un esquema de primovacunación y revacunación a las tres semanas para las vacunas inactivadas, mientras que con la vacuna de virus vivo modificado la vacunación fue anual.

Asimismo se ejecutaron medidas de cuarentena en las zonas afectadas, con restricción de movilización de animales manteniéndose la obligatoriedad de la vacunación. También se ejecutaron fumigaciones masivas en las zonas para la disminución del vector transmisor de la enfermedad.

Para el control de la epizootia se estableció una Comisión de Encefalitis Equina permanente a nivel central donde intervinieron representantes de los Ministerios involucrados (MAC-MSAS), laboratorios de diagnóstico, la OPS-OMS, el Instituto Nacional de Hipódromos, la Dirección de Malariología y el FONAIAP. La Comisión fue la encargada de coordinar las acciones necesarias para el control de la

epizootia. En la actualidad, a través de esta Comisión de Encefalitis Equina se planificaron las estrategias de vacunación a seguir durante 1996, particularmente en el período anterior al comienzo de las lluvias, para mantener una alta cobertura de inmunización y por lo tanto, una baja población de animales susceptibles.

Por otro lado, se programaron otras acciones como el control de movilización de equinos a nivel nacional. Sólo se permitió el traslado de animales vacunados contra la EEV con un período no inferior de 30 días después de la vacunación y con el certificado del Sistema Autónomo de Sanidad Agropecuaria regional correspondiente; también se requirió la vacunación antirrábica y la prueba de Coggins para la Anemia Infecciosa Equina.

Además, se llevaron a cabo otras actividades de vigilancia epidemiológica tendientes a detectar precozmente la presencia de virus epizootico causante de la EEV y poder predecir y prevenir las epizootias y los casos humanos. Para esto se utilizaron animales centinelas y se efectuaron estudios seroepidemiológicos en poblaciones de animales vacunados, a fin de determinar el nivel de protección de los mismos y servir de base para la campaña de vacunación.

A nivel de laboratorio se plantearon estudios de las cepas aisladas durante la epizootia y el análisis de su patogenicidad, dada las diferencias observadas en cuanto a la forma cómo se desarrolló el brote en las zonas afectadas.

Lo anteriormente expuesto indica la importancia que tiene para la sanidad animal y de hecho la salud pública, la interacción de una política sanitaria bien definida, disponibilidad del biológico necesario y una concientización del sector ganadero.

Agradecimiento:

Los autores reconocen la actuación del equipo de Laboratorio de Arbovirus del Instituto de Investigaciones Veterinarias, cuya gestión durante la epizootia de 1995 originó mucha información aquí suministrada. Asimismo a la Sra. Irma M. Puerta, por la dedicación e interés en la traducción del mismo.

Referencias

1. Acha P, Szyfres B: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2a. ed. Pub. Científica. No. 503. OPS-OMS. p.324-334, 1939
2. Baltimore D: Expression of animal virus genomes. Bacteriol Rev 35: 235-241, 1971

3. Gallo P, Vogelsang EB: Resumen de los conocimientos actuales de la encefalomiелitis equina en Venezuela. Rev. Med. Vet. y Parasit. Caracas, 11(1-2):143, 1940
4. Instituto Nacional de Higiene: MSAS. Caracas, Venezuela. Informe sobre la epidemia de EEV, 1955.
5. Kubes V: La peste loca de las bestias, sus manifestaciones tratamiento y prevención. Publicaciones del Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas, Venezuela, 1936.
6. Kubes V: Informe preliminar del Dr. Vladimir Kubes sobre la peste caballar en la Guajira y sobre las dificultades de su combate. Memoria del Ministerio de Agricultura y Cría del año de 1937, 87:151-153. Caracas, Venezuela. 1937
7. Kubes V, Ríos F: Datos preliminares sobre el agente etiológico de la encefalitis infecciosa de los equinos en Venezuela. Publicación de la Dirección de Ganadería del Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas, Venezuela, 1939.
8. Legislación Zoonosanitaria de Venezuela: Ministerio de Agricultura y Cría. Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria. Caracas, Venezuela, p. 22-38, 1994.
9. Mackenzie RB: Experiencias en la naturaleza, buenas y malas, con el uso de vacunas inactivadas contra la Encefalitis Equina Venezolana y otros virus de las encefalitis equinas. Conferencia Internacional sobre Vacunas Contra la Encefalitis Equina. OPS-OMS, 1974.
10. OPS/OMS: Situación de la encefalitis equina en las Américas 1989-1974. IX Reunión Interamericana de Salud Animal a Nivel Ministerial. Washington, D.C. Estados Unidos, 25 al 27 de abril de 1995.
11. Quiroz C: Historia de la Encefalitis Equina Venezolana. Monografía, 10 p.
12. Ramos P: Comentarios presentados por la Sección de Producción de Inmunológicos en la Conferencia Internacional sobre vacunas contra la Encefalitis Equina, 1974.
13. Rivas Larralde S: Encefalitis Equina. Memoria del Ministerio de Agricultura y Cría. Documento No.65 p. 335-359. Caracas, Venezuela, 1943.

14. Rovira JA: El Brote de Encefalitis Equina Venezolana al norte del Edo. Zulia a fines de 1962. Revista Venezolana de Sanidad y Asistencia Social. Vol. XXIX. No. 3, Septiembre, 1964.

15. Siger J: Encefalitis Equina. Jornadas sobre Encefalitis Equina. Colegio Médicos Veterinarios del Edo. Aragua. Maracay, Venezuela, 22 de Noviembre de 1995.

16. Suárez G: Simposio de Virología. Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia. 7 de mayo de 1963. Caracas, Venezuela, 1963.

17. Tiger WD, Downs WG: Studies on the virus of Venezuelan Equine Encephalomyelitis in Trinidad, W.I. The 1943-1944 epizootic. Am J Trop Med Hyg, 11: 822-834, 1962.

FIGURA 1. ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN VENEZUELA (1995)

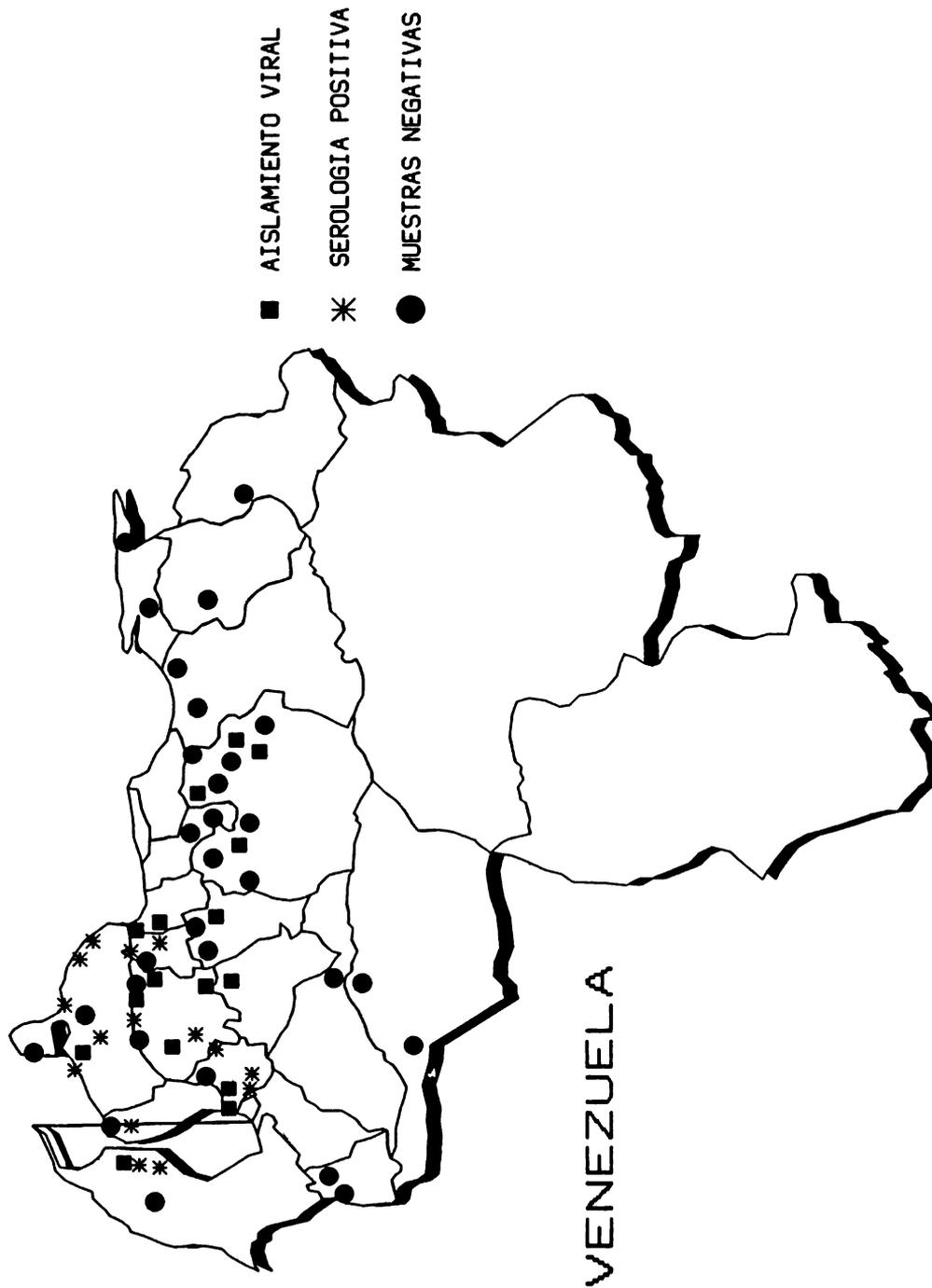


FIGURA 2. ESTRATEGIAS DE VACUNACIÓN EN 1995



CUADRO 1. ANALISIS FILOGENÉTICO DEL COMPLEJO DEL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Subtipo	Variedad	Patrón de transmisión	Localización	Vector
I	AB	Epizootico	Centro, Sur y Norte América	Varios mosquitos mamoflicos
	C	Epizootica	Centro, Sur y Norte América	Varios mosquitos mamoflicos
	D	Enzoótica	Centro y Sur América	<i>Culex (Mel.) ocosa, penocosa</i>
	E	Enzoótica	Centro América	<i>Culex (Mel.) taenopus</i>
II (Everglades)		Enzoótica	Brasil	Desconocido
III	A (Mucambo)	Enzoótica	Sur América	<i>Culex (Mel.) portesi</i>
	B (Tomate)	Enzoótica	Sur América	Desconocido
	B (Bijou Bridge)	Enzoótica	Oeste de Norte América	<i>Oediscus vicaries</i>
	C	Enzoótica	Perú	Desconocido
IV (Pixuna)		Enzoótica	Brasil	Desconocido
V (Cabasocu)		Enzoótica	Guayana Francesa	Desconocido
VI		Enzoótica	Argentina	Desconocido

Fuente: Walton y Grayson, 1990, Citado por Scott C Weaver, Liz Anne Bellew y Rebeca Rico-Hesse, 1992.

CUADRO 2. ELABORACION DE VACUNA CONTRA EL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA DESDE 1940 HASTA 1972

Año	Dosis
1940	12,891
1941	45,805
1942	293,605
1943	1,294.170
1944	612,180
1945	367,620
1946	-
1947	-
1948	-
1949	-
1950	-
1951	-
1952	-
1953	114,000
1954	-
1955	112,830
1956	-
1957	-
1958	75,660
1959	67,320
1960	58,000
1961	28,800
1962	85,900
1963	437,590*
1964	110,370
1965	56,250
1966	50,805
1967	22,590
1968	102,480
1969	9,615
1970	221,685
1971	82,210
1972	231,840
1973	..*
Total	4,494,216

* Incremento de vacunaciones por el brote de encefalitis. ** A partir de esta fecha no hubo producción oficial.
 FUENTE: Departamento de Inmunobiológicos. Instituto de Investigaciones Veterinarias. FONAIAP. Venezuela.

CUADRO 3. DIAGNOSTICO DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN EL AÑO DE 1995.

Entidad Federal	Muestras recibidas		Muestras procesadas			
			Aislamiento viral		Serología IH	
	C	S	C	S	Serología positiva	Positivos (%)
Distrito Federal	-	5	-	-	0/5	-
Anzoategui	-	23	-	-	0/23	-
Apure	-	38	-	-	0/38	-
Aragua	9	159	-	-	0/159	-
Barinas	-	19	-	-	0/19	-
Bolívar	-	2	-	-	0/2	-
Carabobo	6	130	-	3	12/30	9.2
Cojedes	-	66	-	1	4/66	6.1
Delta Amacuro	-	45	-	-	0/45	-
Falcón	7	75	-	1	8/75	10.7
Guarico	18	78	4	2	0/78	-
Lara	-	191	-	6	8/191	4.2
Mérida	-	2	-	-	0/2	-
Miranda	-	7	-	-	0/7	-
Monagas	-	7	-	-	0/7	-
Portuguesa	-	5	-	1	0/5	-
Sucre	-	45	-	-	0/45	-
Táchira	2	15	-	-	0/15	-
Trujillo	-	141	-	2	9/141	6.4
Yaracuay	1	185	-	3	9/185	4.9
Zulia	3	150	-	2	8/150	5.3
Total	46	1388	4	21	58/1388	4.2

Fuente: Laboratorio de Arbovirus. IIV-CENIAP. FONAIAP - CENIAP. Instituto De Investigaciones Veterinarias. Departamento de epidemiología.

* Encefalitis Equina Venezolana (EEV)

C = Cerebro; S = Suero; IH = prueba de inhibición de la hemaglutinación.

CUADRO 4. DIAGNOSTICO DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

- 1. Clínico**
 - 2. Epidemiológico**
 - 3. Laboratorio:**
 - a. Aislamiento viral por inoculación a ratones**
 - b. Identificación por fijación del complemento**
 - c. Diagnóstico serológico por inhibición de la hemaglutinación**
 - 4. Toma de muestras de sangre de animales asintomáticos en contacto con los enfermos o de los que recién inician el período febril y luego la fase convaleciente.**
 - 5. Cerebro de animales muertos.**
 - 6. Diagnóstico diferencial con rabia, toxoplasmosis, rinoneumonitis viral equina, mielopatía equina, encefalitis japonesa, tétanos, lesión hepatocerebral por plantas tóxicas.**
-

XV. AVANCES EN EL DESARROLLO DE LA VACUNAS CONTRA LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA ^{1,2}

George V. Ludwig

A. Vacuna TC-83 contra la EEV. Uso humano	252
B. Vacuna inactivada C-84 contra la EEV. Uso humano	253
C. Otras vacuna contra la EEV disponibles para uso veterinario en los Estados Unidos	253
D. Las nuevas tecnología ofrecen enfoques novedosos para elaborar vacunas contra la EEV	254
E. Ventajas potenciales de vacunas de una "Clona Infecciosa"	258
F. Mutaciones en variantes atenuadas de EEV	259
G. Combinación de mutaciones en un sola vacuna candidata	261
H. Eficacia de las vacunas candidatas contra la EEV en ratones	262
I. Eficacia de las vacunas candidatas de EEV en monos	266
J. Duración de la inmunidad en ratones: Protección	267
K. Resultados de las pruebas de neurovirulencia	269
L. Pruebas de reversión	271
M. Ventajas de la vacuna candidata V3526 sobre la TC-83	271
N. Infecciones de personas por EEV TC-83 en el laboratorio	272
O. Hacia dónde se dirige la investigación	272

¹ Trabajo presentado en el Seminario-Taller: Vigilancia Epidemiológica de las Encefalitis Equinas. CNSA, DGSA, CPA (SAGAR) y OPS/MÉXICO, Chiapas, México, 1996.

² Nota de los editores. Este trabajo fue presentado como figuras y cuadros

A. VACUNA TC-83 CONTRA LA EEV USO HUMANO

- Experimental, viva atenuada, vacuna IND
- Contiene una población viral heterogénea
- Elevada reactogenicidad (aproximadamente 20%)
- Algunas personas vacunadas eliminan virus virulento para los roedores
- La tasa de respondedores es del 20%
- En roedores hay infección fetal y pérdida de peso
- La viremia en equinos es suficiente para infectar vectores
- Protección incompleta contra los subtipos ID, IE, III

-
- Es la vacuna que se utiliza en Norte, Centro y Sudamérica.
 - No se está utilizando en los Estados Unidos aunque tiene licencia como vacuna para uso veterinario.
 - Las porciones que se han secuenciado recientemente del virus de la vacuna Vecol se encontró que eran 100% idénticas a la cepa TC-83 nuestra.

**B. VACUNA INACTIVADA C-84 CONTRA LA EEV
USO HUMANO**

- Experimental, inactivada, vacuna IND
 - Requiere inyecciones múltiples y restimulaciones periódicas.
 - Cara
 - No protege a los roedores contra el desafío por aerosol.
 - Utilizada para reestimar a individuos que no responden a la TC-83.
-

**C. OTRAS VACUNA CONTRA LA EEV DISPONIBLES PARA USO VETERINARIO
EN LOS ESTADOS UNIDOS**

SOLVAY ANIMAL HEALTH, INC.

- Triple-E (FT), (T)

EQUILABS

- Cephalovac (V.E.W.T.)
- Equi-Flu (V.E.W.T.)

No mencionan los Subtipos que contiene
Son productos inactivados

D. LAS NUEVAS TECNOLOGIAS OFRECEN ENFOQUES NOVEDOSOS PARA ELABORAR VACUNAS CONTRA LA EEV

- Secuenciamiento automatizado a gran escala de ARN y ADN.
- Clonación molecular (ADN recombinante).
- Tecnología de clonación infecciosa para virus ARN.
- Mutagénesis dirigida a un sitio
- Transfección eficiente de células con ácidos nucleícos mutados.

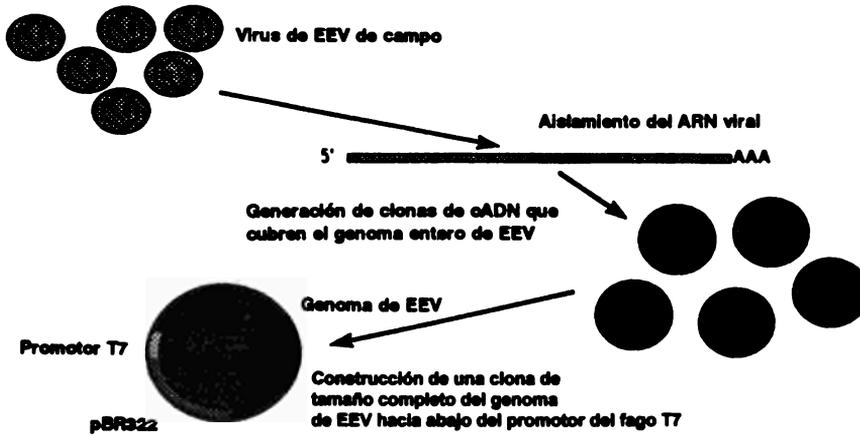
1. ESTRATEGIA

Utilizar la virología molecular e ingeniería genética modernas para racionalmente derivar una vacuna óptima la cual:

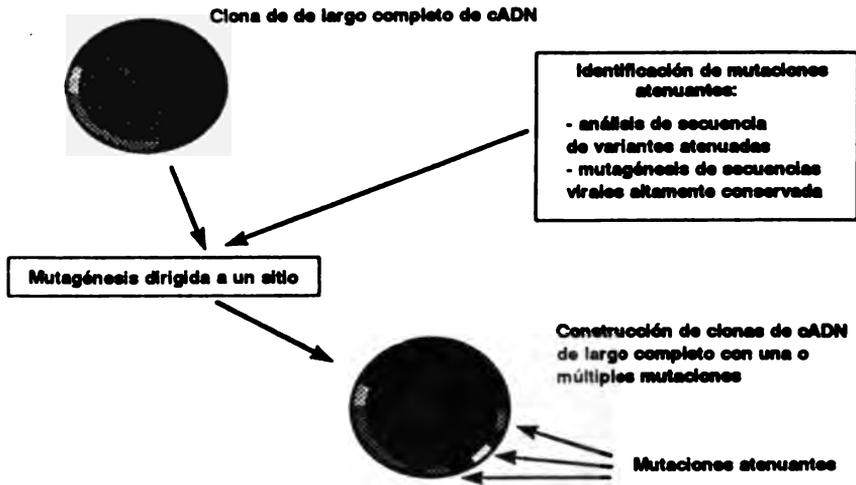
- contendrá mutaciones múltiples e independientes para atenuarla
- será genéticamente estable (baja frecuencia de reversión)
- Definida molecularmente al nivel de los nucleótidos
- Servirá de antecedente para las vacunas de EEE y EEO.

ESTRATEGIAS PARA LA CONSTRUCCIÓN DE VACUNAS DE EEV HECHAS POR INGENIERIA GENETICA

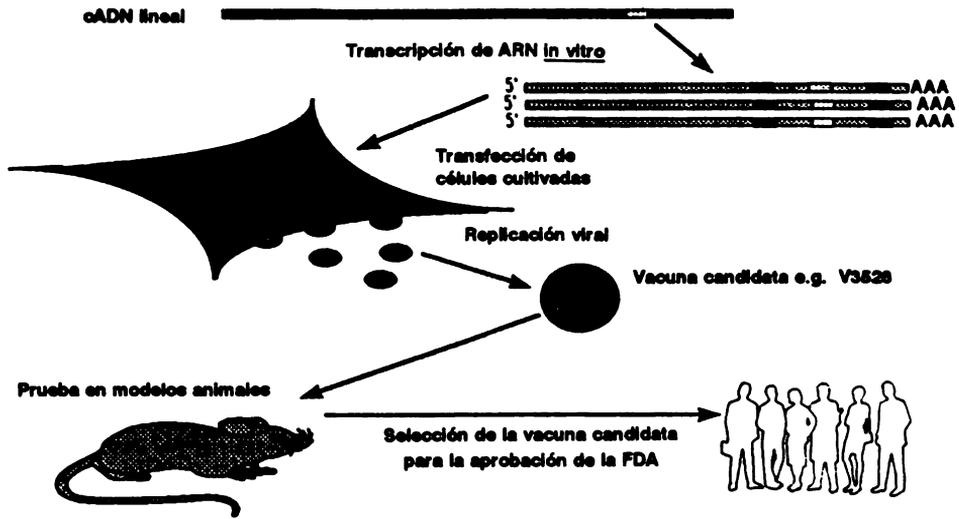
Parte I. Construcción de una clona de cADN de largo completo



Parte II. Mutagénesis dirigida en el sitio de las clonas de largo completo de EEV



Parte III. Generación de vacunas candidatas usando clones cADN mutadas



E. VENTAJAS POTENCIALES DE VACUNAS DE UNA "CLONA INFECCIOSA"

- Cualquier fenotipo es teóricamente posible
 - Las mutaciones candidatas son probadas individualmente
 - Hechas por medio de ingeniería genética para contener mutaciones múltiples e independientes para la atenuación.
 - Atenuación adecuada
 - Estabilidad genética

 - Ventajas en la producción
 - Control de agentes contaminantes
 - Vacuna definida genéticamente a nivel de los nucleótidos

 - Extrapolación directa con otros Alfavirus.
-

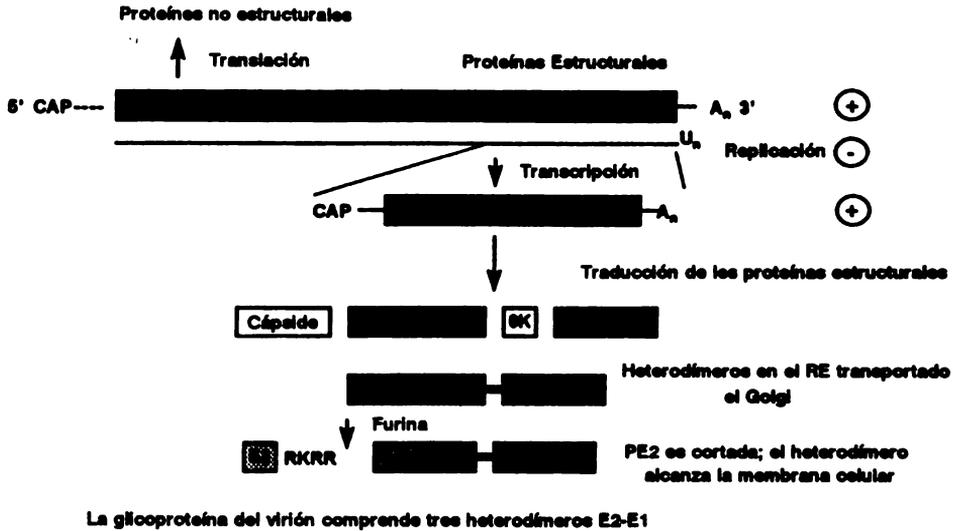
F. MUTACIONES EN VARIANTES ATENUADAS DE EEV

CEPA DE VIRUS	LOCUS DE MUTACION	MUTACION
V3000 *	ninguna	ninguna: genotipo parental
V3010	E2-76	lys por glu en E2 codón 76
V3032	E2-209	lys por glu en E2 codón 209
V3034	E1-272	thr por ala en E1 codón 272
V3040	E1-253	ser por phe en E1 codón 253
V3042	E1-81	ile por phe en E1 codón 81
V3044	nt3A	sustitución (A por G)
** (3X41)	E2-243	gln por leu en E2 codón 243
** (V3526)	E3-(56-59)	delección de cuatro aminoácidos
** (V3528)	E3-59	glu por arg en E3 codón 59

* La DL50 de V3000 es alrededor de 5 veces menor que la de campo TrD.

** La transfección con transcritos de ARN de estas clonas no produce virus infeccioso.

ORGANIZACION Y EXPRESION DEL GENOMA DEL VIRUS DE EEV



G. COMBINACION DE MUTACIONES EN UNA SOLA VACUNA CANDIDATA

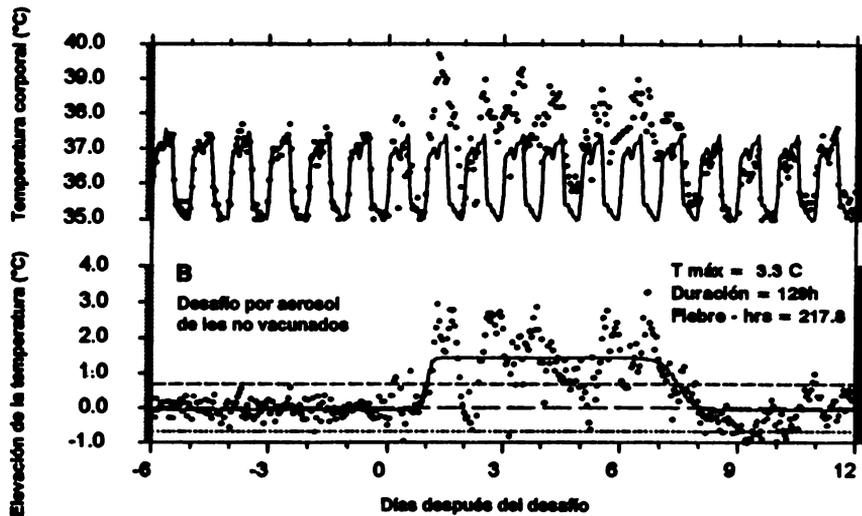
	VACUNA CANDIDATA	COMBINACION DE MUTACIONES
MUTANTES TRIPLES	V3519	E2-76, E2-209, E1-272
	V3520	E2-76, E2-209, E1-81
	V3522	E2-76, E2-209, nt3A
	V3524	E2-76, E1-272, nt3A
MUTANTES DE SITIO DE CORTE	V3526	Delección E3-(56-59) , E1-253
	V3528	E3-59, E1-253
	V3531	Delección E3-(56-59), E2-243
	V3532	E3-59, E2-243

H. EFICACIA DE LAS VACUNAS CANDIDATAS CONTRA LA EEV EN RATONES

	VACUNA CANDIDATA	ATENUACION	RESPUESTA DE ANTICUERPOS	PROTECCION
Mutantes triples	V3519	SI	+/-	20%
	V3520	SI	+	90%
	V3522	SI	+/-	30%
	V3524	SI	+	100%
Mutantes de corte en un sitio	V3526	SI	+++	100%
	V3528	SI	+++	100%
	V3531	SI	++	90%
	V3532	SI	++	100%
Vacunas IND	TC83	SI	+++	95%
	C84	na	++	70%

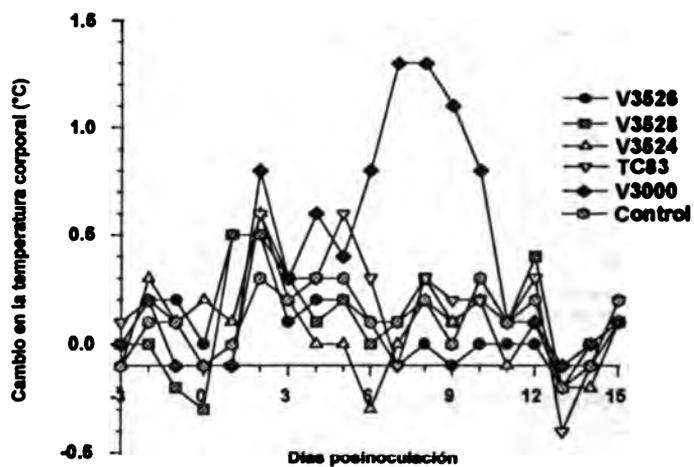
* % de animales que sobrevivieron a un desafío por aerosol

DESAFIO DE PRIMATES NO HUMANOS CON EEV

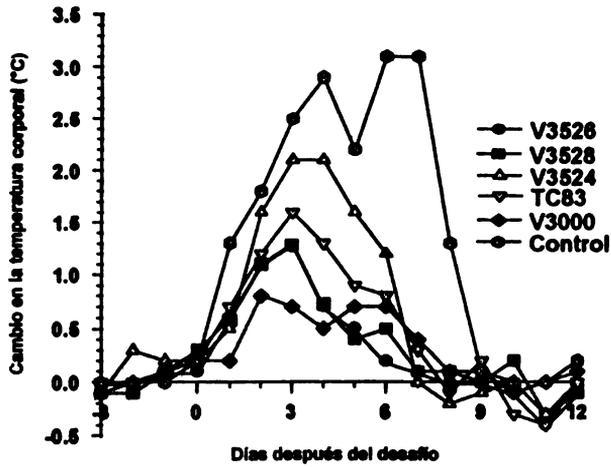


-
- Se necesita revisar la lista de vacunas candidatas
 - Los primates no humanos no presentan cuadros dramáticos de la enfermedad
 - El incremento de la temperatura fue el indicador más reproducible de la enfermedad. Se utilizó un sistema de medida de la temperatura corporal por medio de un sistema de implante y telemetría
 - La figura muestra una respuesta típica de desafío con TrD
 - Se utilizaron los datos de 6 días antes del desafío para generar la línea base
 - La temperatura se incrementa por hasta siete días después del desafío
 - La elevación de la temperatura es la temperatura actual menos la de base

RESPUESTA A LA VACUNACION DE LOS PRIMATES NO HUMANOS



RESPUESTA DE PRIMATES NO HUMANOS VACUNADOS Y DESAFIADOS



- La mejor fue la V3526 y V3528 que contenían las mutaciones de corte de sitio y la mutación resucitante E1-253

I. EFICACIA DE LAS VACUNAS CANDIDATAS DE EEV EN MONOS

	INOCULO	ATENUACION	RESPUESTA DE ANTICUERPOS	PROTECCION *
Candidatas	V3524	si	+ +	80%
	V3526	si	+ + +	100%
	V3528	si	+ + +	100%
Vacunas IND	TC83	si	+ +	80%
	C84	na	+ +	80%
Virus parental	V3000	no	+ + + +	80%

* % de animales que mostraron protección parcial o total (basados en respuesta febril) contra un desafío por aerosol

- La V3524-mutante triple que protegió 100% a los ratones, no protegió a todos los monos del desafío.

- Es interesante remarcar que TC-83 produce la misma tasa de no respondedores tanto en monos como en humanos. Nótese que V3526 y V3528 protegieron el 100%. Hemos observado el mismo fenómeno en hámsters en los cuales el número de animales utilizado es bastante mayor.

EFICACIA DE LAS VACUNAS CANDIDATAS EN PRIMATES

La protección parcial o total en monos inducida por las vacunas candidatas fue evaluada como:

V3000, V3526 > V3528, C84, TC83, V3524 > No vacunados

Vacuna candidata	Promedio del incremento del máximo de temperatura (C)	Promedio de duración del incremento de los signos y la temperatura (h)
Testigo	4.0	155
V3524	2.9	86
TC83	2.8	67
V3528	2.6	50
V3526	2.2	37
V3000	1.8	36

J. DURACION DE LA INMUNIDAD EN RATONES: PROTECCION

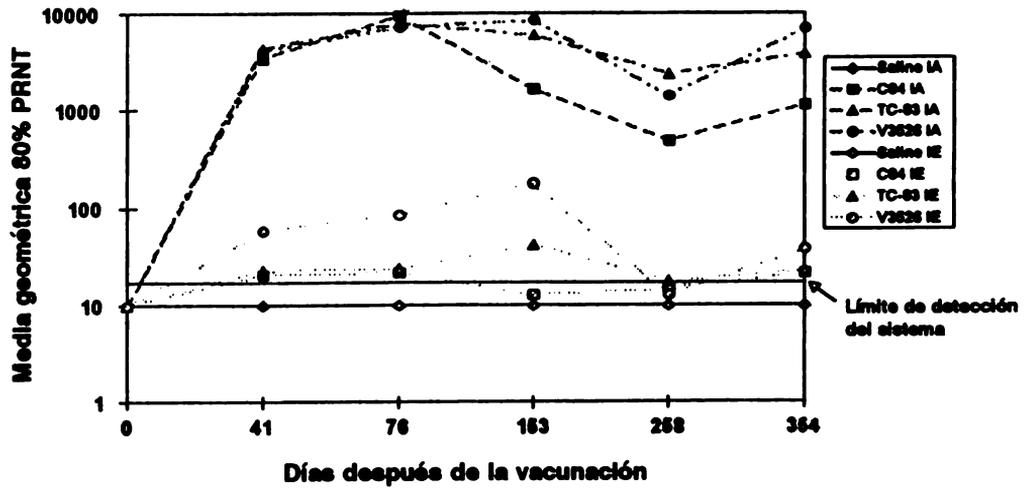
Vacuna	1 Cuarto		2 Cuarto		3 Cuarto		4 cuarto	
	sc	sero.	sc	sero	sc	sero	sc	sero
Salina	0/10 (a)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
PDPM (b)	8	6	9	8	9	8	9	7
CD84	8/8	8/9	10/10	8/10 (c)	10/10	3/10	10/10	4/10
PDPM		8		10		9		10
TC83	10/10	10/10	10/10	10/10	9/9	10/10	10/10	10/10
PDPM								
V3526	9/9	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	10/10	8/8
PDPM						17		

a) Número de sobrevivientes/número probado

b) Promedio del día de la muerte (día más cercano)

c) Todos los ratones enfermaron > 1 semana

DURACION DE LA INMUNIDAD EN RATONES: ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES



K. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE NEUROVIRULENCIA

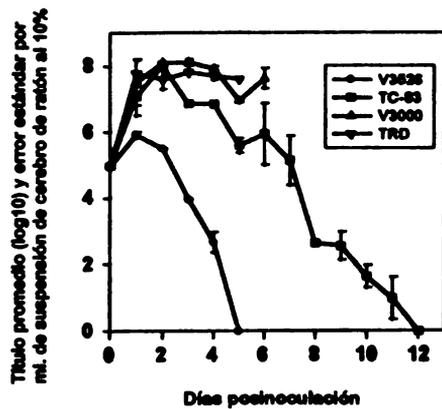
RATONES BALB/c

Virus	IFLD ₅₀	MDD	Animales enfermos	ICLD ₅₀ (PFU)	MDD	Animales enfermos
V3000	30.2	10.3	+	25.1	8.3	+
TRD	6.8	9.3	+	0.2	6.5	+
TC-83	$>4.0 \times 10^8$	NA	-	$>1.6 \times 10^7$	NA	+
V3526	$>1.6 \times 10^8$	NA	-	$>5.8 \times 10^8$	NA	-

RATONES C3H/HeN

Virus	ICLD ₅₀ (PFU)	MDD	Animales enfermos
TC-83	20	12.1	+
V3526	$>1.0 \times 10^8$	NA	-

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO DE LA CINETICA DE REPLICACION



L. PRUEBAS DE REVERSION

Inoculación IC de ratones adultos BALB/c

Pase en cerebro	Virus	Título ¹	Enfermos (%)	Muertos (%)
1	TC-83	8.04	100	0
	V3526	5.49	0	0
2	TC-83	7.73	100	0
	V3526	5.80	0	0
3	TC-83	7.39	100	0
	V3526	5.91	0	0
4	TC-83	8.09	100	0
	V3526	6.46	0	0
5	TC-83	8.22	100	9
	V3526	6.07	0	0

M. VENTAJAS DE LA VACUNA CANDIDATA V3526 SOBRE LA TC-83

- Definida la homogeneidad genética.
- Las mutantes por delección incrementan la estabilidad genética.
- La atenuación es consistente en roedores y primates y es superior a la TC-83
- La seroconversión es consistente en roedores y primates y es superior a TC-83
- Ventajas en la producción
 - no posee agentes contaminantes
 - la fase O y el producto GMP son idénticos
 - la semilla madre es producida por ADN derivada de las bacterias

N. INFECCIONES DE PERSONAS POR EEV TC-83 EN EL LABORATORIO

Caso No.	Años post TC-83	PRNT (TrD)		PRNT (IE)		Fuente probable
		PRE	POST	PRE	POST	
1 (RH)	2	80	320	10	2560	Centrífuga
2 (JG)	0.5	10	640	< 10	80	Centrífuga
3 (NL)	3	40	640	< 10	2560	Preparación de la semilla
4 (ST)	0.5	10	640	< 10	160	Preparación de hemaglutinina
5 (PJ)	2	320	> 2560	80	> 10240	Centrífuga

O. HACIA DONDE SE DIRIGE LA INVESTIGACION

- ESTUDIOS EN CABALLOS
- CLONAS INFECCIOSAS PARA EEE, EEO, EEV Enzoótica (IE, III)
 - Utilizar la experiencia ganada con EEV
- ESTRATEGIAS ALTERNATIVAS
 - Vacunas microencapsuladas

ACUNAS CONTRA LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Diodoro Batalla Campero

A. Introducción	274
B. Encefalitis Equina Venezolana en México, de 1970 a 1974	276
C. Vacunas contra el virus de la EEV	277
D. Vacunas de virus inactivado	278
E. Vacunas de virus vivo	279
F. La vacuna contra EEV (TC 83) para uso en humanos no revierte a la patogenicidad al ser empleada en equinos	280
G. Uso de animales de laboratorio en la prueba de potencia de la vacuna contra EEV y la susceptibilidad del hámster	281
H. Métodos <i>in vitro</i> para la titulación del virus de la EEV	281
I. Modificaciones a la fórmula del estabilizador de la vacuna	281
J. Modificaciones en la fórmula del diluyente de la vacuna	282
K. Determinación de la inmunogenicidad de la cepa vacunal de EEV, en tercer pase	282
L. Pruebas de inocuidad y antigenicidad de la vacuna en condiciones de campo	283
M. Desarrollo de una vacuna inactivada de EEV	283
N. Supervivencia del virus de la EEV en lotes de vacuna conservada en refrigeración	284
O. Empleo de bovinos como centinelas de la actividad viral de EEV y algunos aspectos epizootiológicos	284
P. Aislamiento del virus de la EEV a partir de saliva, lágrimas y cerebro de vampiros inoculados experimentalmente	285
Q. Producción a nivel industrial de la vacuna contra la EEV	285
R. Manejo y aplicación de la vacuna	287
Referencias	292

A. INTRODUCCIÓN

La Encefalitis Equina Venezolana (EEV) es una enfermedad que se presenta principalmente en equinos y humanos y se caracteriza por un cuadro febril que en ocasiones va seguido de uno neurológico y de la muerte. El agente etiológico es un virus clasificado dentro de la familia *Togaviridae*, género *Alfavirus* (1), el cual fue reconocido por primera vez en Venezuela por Beck y Wickoff en 1938 y por Kubes y Ríos 1939 (2,3,4,5,6).

La enfermedad se consideró propia del norte de Sudamérica y Panamá hasta el año de 1962 en que se detectaron anticuerpos seroneutralizantes contra EEV en seres humanos en Champotón, Campeche, México (7). Posteriormente se ha reportado la presencia del virus en otros países de América, donde ha provocado graves epizootemias siendo de las más notables la ocurrida en los años 1962 a 1972 en Norte y Centro América. No afecta a otros animales domésticos en la misma forma que a los seres humanos y equinos, sin embargo pueden intervenir en el ciclo biológico de la enfermedad al igual que algunos animales de la fauna silvestre. La transmisión del virus ocurre a través de mosquitos en los cuales el virus es capaz de multiplicarse por lo que en anteriores clasificaciones se le conocía como arbovirus del grupo A (8,9).

Existen varios serotipos del virus de la EEV con diferencia en patogenicidad y por ende la presentación de brotes con signos clínicos y diferentes grados de mortalidad (10).

Dentro de las cepas de baja virulencia y que ocasionan brotes enzootémicos con baja o nula mortalidad y simplemente desarrollan una enfermedad subclínica con desarrollo de anticuerpos, encontramos el serogrupo ID que se encuentra en Venezuela y Panamá. El IE o Mena II, se encuentra en algunos países de Centro América y estuvo asociado al diagnóstico de personas con anticuerpos en México en 1962, limitado a la costa del Golfo de México. El grupo II o Everglades se ha descrito en la península de la Florida en los Estados Unidos. El grupo III o Mucambo circula en el Norte de Brasil. El grupo IV o Pixuna también se ha descrito en el Norte de Brasil.

En el complejo de alta virulencia y que ocasionó brotes epizootémicos con alta mortalidad encontramos el subgrupo IA diagnosticado en 1938 en Venezuela y Trinidad. El subgrupo IC en Venezuela y el Subgrupo IB, diagnosticado en Ecuador entre febrero a mayo de 1969, que pasó de ahí a Guatemala y Salvador en julio del mismo año sin afectar el resto de los países de Centro América y que posiblemente llegó por movilización aérea del hombre, de equinos, de aves o de

murciélagos, difundiéndose hacia el resto del país en 1970 y 1971 llegando al sur de los Estados Unidos en agosto de ese año (11,12).

El virus posee una cápside de probable simetría de icosaédrica, rodeada de una membrana; la superficie del virión al microscopio electrónico presenta una apariencia difusa y con proyecciones muy finas (5); su tamaño es de 65 a 75 nm, contiene un genoma de ácido ribonucleíco (ARN) de cadena sencilla, posee 3 polipéptidos con alto contenido de lisina asociado con el ARN y otros dos que son glicoproteínas y que junto con los lípidos estructurales forman la membrana viral. La hemaglutinina es un componente inmunogénico en la superficie del virión y probablemente corresponde a las proyecciones de glicoproteína. En lo que respecta a la relación de proteína:lipido:ARN, ésta es de 70:24:6. Se inactiva con desoxicolato de sodio 1:1000 y con éter (indicando que posee lípidos esenciales), con formalina, es sensible al ácido y se inactiva rápidamente a 37 C.

Se puede cultivar en ratón lactante o de 3 semanas de edad, y es capaz de multiplicarse en cobayos, hámsteres, pollos de un día, embrión de pollo, monos, perros y algunas aves, al igual que en cultivos celulares como las células de útero humano y canino, renales de hámster (BHK) renales de mono, embriones de pollo, pulmones de embrión de ratón y corazón de embrión de cobayo.

El diagnóstico se puede hacer por pruebas serológicas como seroneutralización, inhibición de la hemaglutinación y fijación de complemento para lo cual se requieren muestras pares tomadas con un intervalo de cuando menos 14 días y por aislamiento del virus, a partir de sangre tomada en la fase virémica de la enfermedad es decir cuando se manifiestan los signos clínicos, o postmortem a partir de tejido cerebral, o por ELISA de IgM de captura.

El virus ataca a seres humanos de todas las edades pero se ha observado que los individuos menores de 15 años han sido los más afectados. El período de incubación es de 1.5 a 3.5 días con cuadro clínico que asemeja infección de las vías respiratorias, fiebre elevada hasta 40.5 C, dolor de cabeza y musculares, vómito. el paciente se recupera generalmente después de 30 días; algunos pacientes muestran síntomas neurológicos como: rigidez de nuca, convulsiones, desviación de los ojos y en ocasiones sobreviene la muerte.

Los equinos después de 24 horas de incubación presentan fiebre que puede durar hasta 7 días, disminución del consumo de alimento y agua, depresión del sistema nervioso central, leucopenia, disminuye el valor del hematocrito con viremia alta, con títulos de 10^5 o más, hay depresión o exitabilidad, caminan en círculos,

pérdida del balance, flacidez de los labios, ojos semicerrados, orejas caídas y muerte; la morbilidad es elevada con las cepas epizooticas de hasta un 100% y la mortalidad de 20% o más.

B. ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN MÉXICO, DE 1970 A 1974

Durante el verano de 1969 ocurrió una epizootia de Encefalitis Equina Venezolana en Guatemala, El Salvador, Honduras y Nicaragua, de acuerdo con los reportes del Centro de Enfermedades Transmisibles (CDC) (1); las primeras muertes de caballos se registraron en Guatemala en las costas del Pacífico, cerca de la frontera con El Salvador, posteriormente se difundió hacia el oeste, sobre las costas de Guatemala y hacia la frontera de Guatemala y El Salvador; durante el mes de agosto hubo mortalidad en equinos a lo largo de la costa de el Salvador, pero el número de muertes reportadas había disminuido grandemente en los municipios afectados en los cuales sólo había muertes esporádicas. Más tarde se recibieron informes de mortalidad entre los caballos residentes en la costa del Pacífico de la República de Honduras y al norte de Nicaragua.

Se considera que el brote ocurrido en México fue una continuación del ocurrido en Guatemala, ya que a fines de agosto de 1969 se observaron casos de mortalidad de equinos en el municipio de Chicomuselo, Chiapas, que está en la frontera con Guatemala; sin embargo no fue sino hasta junio de 1970 cuando el brote se difundió en forma alarmante iniciándose esta vez en los municipios de Concordia y Trinitaria; de ahí el brote continuó por los márgenes del Río Grijalva y después siguió por Cintalapa y por las poblaciones localizadas en las orillas de las carreteras circunvecinas, dirigiéndose rumbo al Istmo de Tehuantepec, llegando hasta el Estado de Oaxaca y se reportaron algunos brotes en Guerrero y Michoacán.

La Dirección General de Sanidad Animal de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de México organizó la vacunación con vacuna de virus vivo modificado, importado directamente de Fort Detrick (EUA) a los caballos localizados en las áreas de los brotes y formó cordones de vacunación entre los lugares en que aparecieron los brotes y las zonas libres de la enfermedad localizadas al norte. Uno de los cordones de vacunación más amplio fue el localizado en el Istmo de Tehuantepec, aproximadamente un mes antes de la aparición del brote en San Andrés Tuxtla, Veracruz. Después de este último brote, y todavía durante 1970, se vacunó una gran parte de los equinos del Estado de Veracruz. En ese año según reportes oficiales murieron 6,042 equinos. No obstante lo anterior, durante 1971 se presentaron brotes de EEV en Tamaulipas, San Luis Potosí, Nuevo León, Coahuila, Guanajuato, Querétaro, Zacatecas, Aguascalientes, Nayarit, Durango, Jalisco, Puebla y Sinaloa.

Posteriormente se vacunó a los caballos localizados en una amplia zona del territorio mexicano localizada en los límites de la frontera de los EUA, donde en 1970 no hubo casos de EEV y no obstante ello, en 1971, el brote pasó al Estado de Texas, donde el primer caso se presentó el 9 de julio de 1971, en un caballo de Brownsville; posteriormente hubo más casos y hasta septiembre de 1971 el CDC, reportó 88 aislamientos de virus en equinos y 88 casos en humanos confirmados por el laboratorio; además informó de dos casos mas, una persona en la Florida y otra en Arkansas. A partir del mes de julio de 1971 la campaña de vacunación se realizó con vacuna de virus vivo producido en México. En 1971 la mortalidad de equinos se elevó a 38,398. En 1972 se presentaron brotes en los Estados de Guerrero, Michoacán, Morelos, México, Colima, Jalisco, Nayarit, Sinaloa y sur de Sonora, con mortalidad de 4,869 equinos; el último brote que se presentó en el territorio nacional se reportó el 19 de septiembre de 1972 en las Islas Marías y desde entonces no se presentó un solo caso de EEV en México, durante 20 años aunque se han atendido varios cientos de reportes de animales enfermos, negativos al establecer el diagnóstico de laboratorio y se han venido realizando campañas de vacunación anual.

De la descripción anterior se pueden obtener tres conclusiones:

Primera: que la enfermedad siempre que se trasladó a grandes distancias lo hizo dirigiéndose hacia la parte norte del Continente Americano.

Segunda: que los cordones de vacunación no evitaron que la epizootia se difundiera a lugares lejanos.

Tercera: que después de una campaña de vacunación bien planeada, seguida de programas de revacunación anuales, fue posible controlar el brote.

C. VACUNAS CONTRA EL VIRUS DE LA EEV

Actualmente se conocen dos tipos de vacunas contra la Encefalitis Equina Venezolana, preparadas siguiendo distintas técnicas que se pueden dividir en dos grandes grupos (13,14,15,16):

De vacunas inactivadas, empleando cepas de campo originarias de los brotes actuales, o semillas maestras debidamente clasificadas, inactivadas con formalina, o mediante ionización, o por la aplicación de irradiación de rayos gamma. (17,18,19,20,21).

De vacunas elaboradas a partir de virus vivo modificado y atenuado, del cual hasta la fecha solamente se ha empleado la vacuna elaborada con la cepa TC-83.

D. VACUNAS DE VIRUS INACTIVADO

Las vacunas inactivadas se ha venido empleando desde que la Encefalitis Equina Venezolana hizo su aparición en el continente Americano, según lo señalan Siguer y col. (1974), siendo Kubes (1936), Kubes y Ríos (1939), quienes dieron la pauta e iniciaron los trabajos de producción de vacunas (5,8). La vacuna originalmente se preparaba según la técnica descrita por Kubes y Diamante (1942), con el virus aislado por Kubes y Ríos, denominado V 1938, elaborando los primeros lotes de vacuna contra esta enfermedad a partir de una suspensión de embriones de pollo al 10% según el método descrito por Shahn y Giltner (1935) y Milchell *et al.* en 1938, con ligeras modificaciones (2,10).

Desde entonces hasta la fecha se han venido ensayando diferentes modificaciones al método de producción de vacuna inactivada de origen en embrión de pollo destacando los trabajos de Randall *et al.* (12) y Smith *et al.* (13) en los que se describen técnicas de preparación y purificación de las vacunas antes descritas y el de Randall (14) para el uso de dichas vacunas en la inmunización de personas que trabajan en laboratorios de Arbovirus (22,23,24).

Se tiene un gran número de reportes de Venezuela y Colombia, en donde el uso de la vacuna mal inactivada con formalina ha sido la fuente para desencadenar brotes en equinos y humanos de Encefalitis Equina Venezolana, que coinciden con los estudios de Sutton (15) y Smith (16), que señalan que si la inactivación se hace con formalina al 4 por mil, quedan partículas de virus vivo, con las cuales se pueden producir casos de enfermedad en sujetos vacunados y si la inactivación se hace elevando la formalina al 4%, la vacuna resulta inocua, pero con un porcentaje de protección muy bajo y por un período corto de tiempo, después de dos aplicaciones con intervalos de 10 días. En síntesis, desde que la Encefalitis Equina Venezolana se presentó en el continente, se han venido elaborando y utilizando vacunas inactivadas para tratar de controlar la enfermedad (25,26).

No fue sino hasta el 11 de agosto de 1974 que, por iniciativa de la Oficina Sanitaria Panamericana de la Organización Mundial de la Salud, se reunieron en Maracay, Venezuela, los expertos en producción de vacuna contra EEV, de los distintos países de América y se dictaron las recomendaciones para tratar de resolver el grave problema de la falta de control en la producción de las vacunas inactivadas (27).

E. VACUNAS DE VIRUS VIVO

Hasta la fecha, la única vacuna de virus vivo modificado que se conoce es la elaborada con la cepa TC-83, que según estudios experimentales de McKinney con una sola aplicación protege a los equinos por más de dos años (28,29). Dicha vacuna se ha venido utilizando con excelentes resultados en algunos brotes presentados en Colombia, Perú, Ecuador, Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, México y Estados Unidos.

1. Origen de la cepa

La cepa originalmente fue aislada por Randall, en cobayo, a partir del cerebro de un burro que murió de Encefalitis Equina Venezolana, durante un brote en la isla de Trinidad en 1943; posteriormente se le dieron 13 pases en embrión de pollo y se hicieron estudios con los que se demostró que el virus de la EEV podría ser adaptado para crecer en una variedad de células de cobayo (30,31,32,33,34,35). Las células de corazón de cobayo fueron seleccionadas para este estudio. Se hicieron pases en serie del virus, a intervalos de 3 a 5 generaciones por pase. Los fluidos cosechados se probaron en ratones encontrando que en el pase número 26 un pequeño grupo de ratones sobrevivió a la inoculación, aumentando progresivamente el número de ratones que sobrevivía conforme se elevaba el nivel del pase. Después de 45 pases se logró la completa atenuación del virus cosechado de los cultivos celulares para el ratón inoculado tanto por la vía intraperitoneal como intracerebral y observando en equinos, que el virus había perdido la capacidad de producir la enfermedad, pero que después de la inoculación incrementaba las defensas específicas del organismo contra la EEV (36,37,38,39,40). Para entonces se elaboraron varios lotes de vacuna de los pases 50,70 y 90, encontrando que era una vacuna efectiva para su uso en humanos.

Con el propósito de purificar el virus, el pase número 70 se inoculó en fibroblastos de embrión de pollo, seleccionando para ello 12 placas, de las cuales 9 eran patógenas y tres no. Una de las tres no patógenas se utilizó como semilla para preparar un lote de vacuna en células de corazón de embrión de cobayo (pase 80); se le dieron 2 pases más hasta llegar al pase 82 para ser empleado como semilla para producción y el 83 como la vacuna proporcionada por la National Drug Company, que era una una para uso humano.

Posteriormente se proporcionó el protocolo de producción editado por la National Drug Company, USA, Army Medical Research and Development Command en Fort Detrick Maryland y el pase 83 a los laboratorios productores de la vacuna, Jensen Salsbey Laboratories (Jen Sal, EUA) Instituto Nacional de Investigacione

Pecuarias (SAG, México), Empresa Colombiana de Productos Veterinarios (VECOL) para que sea empleada como semilla madre y preparar la semilla maestra o de trabajo con el pase 84, encontrando que la vacuna utilizada actualmente corresponde al pase 85 elaborado de una manera estándar y siguiendo dicho protocolo, al cual en México según resultados de investigación y trabajos publicados se le han hecho algunas modificaciones para mejorar la calidad del producto, facilitar su manejo en condiciones de campo y demostrar su eficacia para uso en equinos que han sido adaptados por los laboratorios de los Estados Unidos y Colombia.

F. LA VACUNA CONTRA EEV (TC 83) PARA USO EN HUMANOS NO REVIERTE A LA PATOGENICIDAD AL SER EMPLEADA EN EQUINOS

Se implementó un experimento en las instalaciones de Palo Alto con 30 caballos mestizos de 5 a 12 años de edad distribuidos al azar en 6 grupos de 5 animales cada uno. El primer grupo fue vacunado con una dosis de vacuna TC83 de virus activo modificado desarrollado para su uso en humanos (5,000 DL 50%); los caballos fueron sangrados entre los días 1 a 15 cada 12 horas, para aislamiento de virus y detección de anticuerpos y se observaron sus manifestaciones clínicas durante 14 días.

Tres de los cinco caballos desarrollaron fiebre ligera con promedio de 39.5 C, los días 5,6 y 7 post vacunación, ningún caballo mostró sintomatología de EEV; todos desarrollaron viremia en títulos bajos menores de 10^3 , que es lo que señala la literatura como necesario para que se infecten los mosquitos y en todos se demostraron anticuerpos diez días después de la vacunación.

Con la sangre colectada del primer grupo de caballos que contenía el virus vacunal se inoculó el segundo grupo de 5 caballos con 77 ml cada uno conteniendo 4,800 DL 50 haciendo observaciones similares, es decir algunos desarrollaron fiebre ligera ningún caballo mostró signos de EEV, todos desarrollaron viremia con títulos un poco más elevados que en el primer grupo pero sin alcanzar el 10^3 DL 50/ml y todos desarrollaron anticuerpos. Con la sangre conteniendo virus de este segundo grupo, se inoculó el tercer grupo, y así sucesivamente hasta el sexto grupo de caballos obteniendo resultados similares. Una vez terminada esta parte del experimento los caballos fueron sacrificados y se hicieron estudios histopatológicos de muestras de tejido del sistema nervioso central demostrando que no hubo lesiones microscópicas en los tejidos analizados. Se demostró que después de cinco pases consecutivos en caballos, la cepa vacunal desarrollada para uso humano no revertía a la patogenidad y no provocaba lesiones microscópicas en el sistema nervioso central de los equinos (41,42,43,44,45).

G. USO DE ANIMALES DE LABORATORIO EN LA PRUEBA DE POTENCIA DE LA VACUNA CONTRA EEV Y LA SUSCEPTIBILIDAD DEL HÁMSTER

Con el propósito de facilitar la prueba de potencia para la vacuna contra EEV, se recomienda hacerla en cobayos, en los cuales después de vacunados se evalúa la conversión serológica. Se ensayó el uso del ratón lactante inoculado por vía IC para la titulación del virus, del ratón de 21 días y del hámster inoculado por vía IP, para evaluar la conversión serológica, encontrando que las tres pruebas se pueden emplear como alternativa al uso del cobayo, ya que al compararlo con esta prueba no hubo diferencias estadísticamente significativas (46,47,48,49).

H. MÉTODOS *IN VITRO* PARA LA TITULACIÓN DEL VIRUS DE LA EEV

Con el propósito de facilitar los métodos para aislamiento de virus a partir de muestras de campo, de la titulación de vacunas y de la titulación de anticuerpos seroneutralizantes desarrollados ya sea por animales enfermos o vacunados, se propuso abandonar los métodos tradicionales de neutralización en animales de laboratorio y ofrecer alternativas *in vitro* empleando cultivos celulares; se evaluaron las pruebas de efecto citopático y de neutralización del mismo en células Vero y la prueba de placas y de reducción de placas en células BHK-21, encontrando que dichas pruebas *in vitro* se pueden emplear no habiendo diferencias estadísticamente significativas al compararlas con los métodos tradicionales en animales de laboratorio. Pusimos por tanto a disposición de los que trabajan con este virus, para el diagnóstico, así como para la titulación de vacunas o para la titulación de anticuerpos seroneutralizantes, nuevas técnicas en cultivos celulares (50,51,52).

I. MODIFICACIONES A LA FORMULA DEL ESTABILIZADOR DE LA VACUNA

Debido a que la vacuna desarrollada estaba destinada para uso en humanos, el estabilizador recomendado por el protocolo original, era muy pobre en proteínas que al final protegen al virus durante el proceso de liofilización; en estas condiciones la vacuna una vez liofilizada debería de ser manejada en condiciones de congelación a -20 C. Este requisito es difícil de satisfacer en nuestro país, sobretodo en condiciones de campo ya que no siempre se cuenta con la infraestructura de red fría, de congeladores en los centros de vacunación, ni de suficientes plantas productoras de hielo seco para abastecer las hieleras para la vacunación. Se hizo necesario que la vacuna se pudiera manejar en simple refrigeración a 4 C, con hielo de agua y conservada en refrigeradores comunes; para ello se produjeron lotes de vacuna con diferentes estabilizadores y pudimos

descubrir el que mantenía la viabilidad del virus después de liofilizada la vacuna, con su prueba de caducidad acelerada mantenida a 37 C con un título por arriba del mínimo requerido después de 2 semanas y lo mismo cuando fue mantenida a 4 C por 48 horas y por dos semanas. Con estos resultados, se hicieron los trámites para modificar la fórmula del estabilizador y poder recomendar que la vacuna se manejara en condiciones de refrigeración a 4 C (53,54,55,56).

J. MODIFICACIONES EN LA FÓRMULA DEL DILUYENTE DE LA VACUNA

El diluyente recomendado por el protocolo original de producción, para reconstituir la vacuna contra EEV, era una solución balanceada de Hanks, adicionado de lacto albúmina al 5%. Surgieron varias dificultades en la elaboración y manejo del mismo debido a que se trata de un medio de cultivo rico en proteínas, siendo necesario prepararlo y envasarlo dentro de las más estrictas condiciones de esterilidad; en ocasiones la esterilización producía precipitaciones en el medio; incluso después de todas estas medidas se encontraba que en algunos frascos, después de un almacenamiento no muy prolongado había crecimiento de hongos y bacterias contaminantes; además, encontramos en algunos casos alteraciones en el pH con desviaciones tanto hacia la acidez como a la alcalinidad, resultando ser un producto mucho más sensible de manejar que la misma vacuna, lo que redundaba en deterioro del virus al reconstituir la vacuna.

Se pensó en adicionar las proteínas estabilizadoras, en el producto liofilizado, suprimirlas del diluyente y después de evaluar diferentes fórmulas de más fácil elaboración y manejo, se encontró que con una solución amortiguadora y un indicador de pH, se mantenía la viabilidad de la vacuna con títulos superiores al mínimo requerido y sin que cayera después de reconstituida y ser mantenida en refrigeración por 14 días. Con estos resultados se hicieron los trámites para modificar el diluyente y poder ofrecer uno que no se alterara con el tiempo, de más fácil elaboración y que en condiciones de campaña, con manejo de grandes volúmenes de dosis, no requiera de refrigeración; solamente se refrigerará el producto final liofilizado (57,58).

K. DETERMINACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LA CEPA VACUNAL DE EEV, EN TERCER PASE

Con el propósito de asegurar la disponibilidad de semilla de producción de la vacuna contra EEV, se hizo un estudio para ver si después de 3 pases en células de corazón de cobayo, mantenía su inmunogenicidad original. Encontrando que no hubo variaciones al respecto, con lo que se preparó un lote con un pase mas

para emplearlo como semilla de producción, de la que se tienen varios frascos, asegurando la disponibilidad de semilla para cuando menos 30 años ya que según los resultados de este estudio se le pueden dar dos pases mas sin alterar su inmunogenicidad (59,60,61,62).

L. PRUEBAS DE INOCUIDAD Y ANTIGENICIDAD DE LA VACUNA EN CONDICIONES DE CAMPO

Para demostrar la inocuidad y antigenicidad de la vacuna en condiciones de campo, se hicieron dos estudios. Uno en condiciones controladas, en el área de Teziutlán y Hueytamalco, Puebla, donde los equinos vacunados fueron identificados. Se hicieron observaciones clínicas de 2,000 caballos vacunados y serología de 200, encontrando que ninguno mostró signos de EEV 14 días después de haber sido vacunado; todos los sueros colectados 14 días después de la vacunación tuvieron anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación, cuando antes de recibir la vacuna fueron negativos. Con estos resultados se cambió el planteamiento de la campaña, que solamente contemplaba vacunar equinos en áreas donde se presentaban los brotes y, aunado a los resultados de la no reversión a la patogenicidad, se pudo vacunar en áreas donde todavía no había brotes, para prevenir la enfermedad y en áreas libres de encefalitis, para evitar la difusión de la epizootia en proporciones tan alarmantes como las contempladas en ese momento (63,64,65,66).

M. DESARROLLO DE UNA VACUNA INACTIVADA DE EEV

Con apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) se realizó un proyecto de investigación para desarrollar una vacuna inactivada, la cual se elaboró con la cepa TC-83 propagada en cultivos celulares de corazón de embrión de cobayo. Se obtuvieron cosechas con títulos altos de virus el que fue inactivado con beta propiolactona y resultó ser un inmunógeno eficaz. Sin embargo, se continúa empleando la vacuna de virus vivo, modificada pero, si en algún momento se requiriera cambiar la política actual de vacunación que es de control de la enfermedad, a la de erradicación, se cuenta con esta vacuna inactivada para hacerlo (67).

N. SUPERVIVENCIA DEL VIRUS DE LA EEV EN LOTES DE VACUNA CONSERVADA EN REFRIGERACIÓN

Con el propósito de asegurar que la vacuna se mantiene viable durante el período que marca la fecha de caducidad, se estudiaron lotes de vacuna que tenían 18, 24 y 30 meses de haber sido elaborados. Encontramos que el 100% de los viales estudiados mantenían su título por encima del mínimo requerido después de 18 meses; algunos de ellos lo conservaban después de 24 meses y dos, después de 30 meses, dando un amplio margen de seguridad a la fecha de caducidad que está marcada con 12 meses (68,69,70).

O. EMPLEO DE BOVINOS COMO CENTINELAS DE LA ACTIVIDAD VIRAL DE EEV Y ALGUNOS ASPECTOS EPIZOOTIOLÓGICOS

Se vacunaron bovinos con la vacuna EEV TC-83, con las modificaciones antes descritas; se encontró que todos desarrollaron anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación (IH). Al hacer muestreos serológicos en esta especie durante la epizootia, también se identificaron anticuerpos sin que ninguno mostrara signos de la enfermedad. Con esto quedó demostrado, ya que normalmente no se vacunan los bovinos contra EEV, que los sueros de estos animales que se obtengan para diagnóstico de Brucelosis y otras enfermedades, pueden servir para detectar actividad viral de EEV en diferentes regiones del país y de esta manera los bovinos que no se vacunan con EEV, pueden servir como animales centinelas, sin gastos adicionales para el muestreo serológico. Al utilizar bovinos como sensores de actividad viral, no se corre el riesgo de dejar algunos equinos sin vacunar, ni de modificar el ciclo biológico del agente, ni la ecología de la enfermedad, al introducir nuevos huéspedes como cobayos y hámsters en los nichos naturales, que pueden actuar como amplificadores del virus al desarrollar viremia con títulos muy elevados, lo que puede alterar la patogenicidad del virus e infectar a un gran número de mosquitos vectores.

Por otro lado, con las técnicas serológicas de diagnóstico desarrolladas como parte de este proyecto, se han podido hacer estudios de los aspectos epizootiológicos de los brotes y se ha podido evaluar la actividad viral de otras encefalitis equinas como la del Este y del Oeste; además se puede mantener un programa de vigilancia epizootiológica (71,72,73,74,75,76,77,78).

P. AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA EEV A PARTIR DE SALIVA, LÁGRIMAS Y CEREBRO DE VAMPIROS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE

Con el propósito de estudiar el papel que representa el comportamiento migratorio del vampiro *Desmodus rotundus*, ante el virus de EEV y de alguna manera aportar datos de cómo los brotes se pueden desplazar a varios kilómetros de distancia, sin afectar a los equinos de las áreas intermedias (de Ecuador a Guatemala, 1969) se inocularon 20 vampiros por diferentes vías y con distintas dosis de virus, logrando recuperar el virus de un murciélago inoculado por vía intracerebral a partir de saliva: a los 5, 8 y 12 días y de lágrimas: a los 8 y 12 días después de la inoculación. Este animal murió el día 16 y se recuperó el virus a partir de cerebro. Se demostró que aunque esta no es la ruta natural de adquirir la infección, no se puede descartar la posibilidad de que las migraciones de murciélagos pueden acarrear al virus de una región a otra (79).

Q. PRODUCCIÓN A NIVEL INDUSTRIAL DE LA VACUNA CONTRA LA EEV

Con los resultados anteriormente descritos tanto de la bondad de la vacuna, de las modificaciones realizadas en su elaboración y de las técnicas modernas aplicadas para evaluar su calidad, se implementó la producción a nivel industrial, primero en las instalaciones de Palo Alto, donde se elaboraron más de 33 millones de dosis de 1971 a 1976 (Cuadro 1) con lo que se controlaron los brotes que se presentaban en ese momento en el país. La efectividad de la medida fue tal que desde el 19 de septiembre de 1972, en que se reportó el último brote epizootico en las Islas Marias, no volvió a ocurrir ninguno más en el país en los siguientes 20 años; se han atendido varios cientos de reportes de equinos enfermos de encefalitis, que resultaron negativos a EEV por pruebas de laboratorio. Se ha continuado con programas y campañas de vacunación anual, a nivel nacional, aplicando la vacuna que con estas modificaciones actualmente elabora la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE) que desde 1976 a la fecha ha producido varios millones de dosis. Como estas medidas no impiden la introducción del virus al país cuando éste circula en países vecinos, a principios de la década de los ochentas cuando se presentó un brote en Belice, se asoció con algunos casos aislados de encefalitis en equinos de Quintana Roo y Yucatán.

En el período de 1970 a 1972 se reportaron 49 mil equinos muertos; 51 mil casos se dieron en humanos con 93 defunciones. En el período de 1970 a 1976, se produjeron más de 33 millones de dosis de vacuna, se aplicaron cerca de 17 millones de dosis y se exportaron más de 1,750,000 dosis (Cuadro 2) a Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá y Perú. Actualmente PRONABIVE continúa exportando vacuna a estos países agregando a la lista Belice y se tiene un convenio con Cuba, que consiste

en contar con suficiente vacuna para el caso de que sí la EEV se introdujera en ese país, se pueda contar de inmediato con suficiente biológico para hacer frente a la epizootia. Se ha capacitado al personal de diferentes países de Centro y Sudamérica en la producción y control de calidad de la vacuna; sin embargo por cuestiones de costos, han preferido comprar el biológico a nuestro país.

Las modificaciones antes señaladas en los procedimientos de producción y de control de calidad para mejorar las bondades del producto han sido adoptadas por los laboratorios Jensen Salsbey (Jen Sal) de los Estados Unidos de Norte América y por la Empresa Colombiana de Productos Veterinarios (VECOL) que también elaboran la vacuna en el mundo.

Actualmente se cuenta con suficiente semilla y con los mecanismos, científicos, técnicos y administrativos necesarios para:

1) Establecer convenios sobre la producción y comercialización de la vacuna entre los laboratorios comerciales interesados y el Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología del INIFAP).

2) Poner el biológico a disposición de los propietarios de equinos, a nivel de farmacia y no solamente a través de campañas sanitarias, como se realiza actualmente y de esta manera prevenir en forma más eficaz, la presentación de un nuevo brote epizootico como el ocurrido entre 1970-1972.

3) Colaborar para salvaguardar la ganadería equina del país contra esta enfermedad y prevenir su transmisión al hombre ya que, según estudios realizados en fauna silvestre, en bovinos y en mosquitos, de una u otra manera, puede continuar cierta actividad viral en algunas regiones del país. Además existe el peligro constante de que cuando se presenten brotes en algún país de Centro y Sudamérica, el virus pueda de alguna manera, llegar a nuestro país y enfermar a aquellos equinos que no tengan inmunidad para la misma.

Por todo esto, se ha hecho necesario continuar con los programas de vacunación en las diferentes regiones del país, sobre todo en aquellas áreas consideradas como de alto riesgo, como son los Estados comprendidos en la zona sur y sureste del país, así como en las áreas tropicales, donde se vacunan anualmente alrededor de 1.5 millones de cabezas de equinos, de una población potencialmente susceptible de más de 3 millones que requieren de ser vacunados y que se podría cumplir en su totalidad, con la participación de los productores y propietarios de equinos y de la industria química farmacéutica veterinaria; además, se está en la capacidad de incrementar la exportación de vacuna a los países de Centro y Sudamérica (80,81, 82, 83).

R. MANEJO Y APLICACIÓN DE LA VACUNA

La vacuna y el diluyente deberán conservarse siempre en refrigeración a 4 C, protegidos de los rayos solares, procurando que tanto el diluyente como la vacuna ya reconstituida, mantengan un pH adecuado, lo cual se identifica comparando el color del producto con el de la etiqueta a que sean iguales o muy parecidos.

Posología: Inyectar 0.5 ml por vía subcutánea, usando una aguja diferente para cada animal.

Uso: Para inmunización de la Encefalitis Equina Venezolana en caballos, burros y mulas.

Presentación: Frascos ampula conteniendo vacuna liofilizada y frasco ampula de diluyente de 5 ml para preparar 10 dosis.

Precauciones: Es importante recordar que la vacuna contiene virus vivo y que la efectividad de la vacunación depende de la supervivencia del virus. Se deben tomar las siguientes precauciones:

- 1) La vacuna debe ser mantenida en la obscuridad a una temperatura inferior a 4 C; es importante que la vacuna está refrigerada todo el tiempo.
- 2) No utilizar nunca la vacuna reconstituida en su diluyente cuando haya pasado una hora después de reconstituida.
- 3) Las agujas y las jeringas deben ser esterilizadas por autoclave, pero nunca con alcohol, formalina y otros productos químicos parecidos. Deberá utilizarse una aguja diferente para animal. Es recomendable el uso de material desechable.
- 4) Ya que son necesarias 3 a 4 semanas para que la inmunidad del animal sea completa, es importante mantener a los animales vacunados, al abrigo de la infección natural y en reposo absoluto por las mismas 3 a 4 semanas; se pueden observar reacciones febriles de 3 a 5 días después de la vacunación.
- 5) Se recomienda que en las regiones de alto riesgo y donde se repitan los brotes de la enfermedad, que se practique la revacunación anual para mantener un alto nivel de inmunidad.

6) Se reconoce que ninguna vacuna produce 100% de inmunidad y que a causa de exposiciones prolongadas y peligrosas, pueden ocurrir accidentes. Esto no quiere decir necesariamente que la vacuna ha fracasado. Puede explicarse por que el animal estuvo en contacto en el campo, con una cepa silvestre virulenta, o pudo haber tenido este contacto muy próximo a la administración de la vacuna, o incluso que el animal pudo haber estado infectado previo a la vacunación. Se sabe que ciertos animales no pueden ser vacunados con éxito.

7) En caso de reacción anafiláctica, inyectar inmediatamente 1 ml por cada 80-100 kg de peso, de una solución de clorhidrato de epinefrina al 1:100 por vía endovenosas.

CUADRO 1. PRODUCCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y APLICACIÓN DE VACUNA CONTRA LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA. MÉXICO, 1970-1976

AÑO	EQUINOS MUERTOS	CASOS HUMANOS (**)	DEFUNCIONES EN HUMANOS (**)	DOSIS DE VACUNA PRODUCIDAS POR INIFAP, SAG (***)	VACUNA ENTREGADA A DGSA-SAG	EQUINOS VACUNADOS POR DGSA-SAG	VENTA	DONADA
1970	6,042	-	-	-	-	428,365	-	-
1971	38,498	25,384	52	12,496,200	5,825,500	4,480,953	-	-
1972	4,769	25,753	41	2,372,400	1,536,320	1,584,520	1,308,330	17,000
1973	-	-	-	4,466,000	3,478,000	2,326,383	174,500	57,880
1974	-	-	-	5,572,000	5,110,400	3,142,726	96,000	38,390
1975	-	-	-	4,401,750	3,185,000	2,103,170	48,400	30,000
1976	-	-	-	4,373,300	4,714,500	2,771,849	43,000	50,000
Total	49,309	51,137	93	33,681,650	23,852,720	16,837,966	1,669,230	193,270

(*) Vacuna importada

(**) Borunda y colaboradores, 1973

(***) A partir de 1977 la producción y distribución de vacuna ha sido por cuenta de la PRONABIVE con el protocolo entregado por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias

CUADRO 2. NUMERO DE DOSIS DE VACUNA CONTRA LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA COMERCIALIZADA EN EL PERIODO 1981-1998.

AÑO	NUMERO
1981	760,000
1982	663,809
1983	698,180
1984	762,804
1985	476,804
1986	762,277
1987	653,640
1988	300,653
1989	324,959
1990	310,415
1995	591,430
1996	289,540
1997	180,290
1998	141,300

Fuente: Productora Nacional de Biológicos Veterinarios.

CUADRO 3. EXPORTACIÓN DE VACUNA DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA 1971-1976*

PAÍS	AÑOS					
	1971	1972	1973	1974	1975	1976
Colombia	30,000	130,000	-	-	-	-
Costa Rica	-	25,000	-	20,000	-	-
Ecuador	-	4,000	5,000	-	-	-
El Salvador	-	30,000	100,000	50,000	30,000	55,000
Guatemala	-	50,000	10,000	60,000	150,000	-
Honduras	-	46,000	-	250,000	200,000	-
Nicaragua	-	110,000	15,000	95,000	20,000	17,000
Panamá	-	-	-	50,000	-	-
Perú	-	-	100,000	50,000	6,600	50,000
Total	30,000	395,000	230,000	575,000	406,600	122,000
						1,758,600

* A partir de 1977 PRONABIVE ha continuado con la exportación

REFERENCIAS

1. Center for Disease Control: Neurotropic viral diseases, surveillance Encephalitis. Annual Encephalitis Summary, 1969. p. 30-32. Venezuelan Equine Encephalomyelitis (VEE) in Central America. Octubre 15, 1970.
2. Shahn, M.S. and Giltner, L.T.: Equine encephalomyelitis studies, cross immunity test between Eastern and Western types of virus. Jour. Vet. Med. Ass. Amer., 39:764-772. 1935.
3. Kubes, V.: La peste local de las bestias, sus manifestaciones, tratamiento y prevención. Publicación del Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas Venezuela., 1936.
4. Kubes, V. y Ríos F.: Datos preliminares sobre el agente etiológico de la encefalitis infecciosa de los equinos en Venezuela. Publicación de la Dirección de Ganadería. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas, Venezuela., 1938.
5. Kubes, V. and Ríos, F.: Preliminary data in the etiology agent of infectious Encephalomyelitis of equine in Venezuela, Science, 90:20., 1939.
6. Kubes, V. y Diamante, A.: Estudios de inmunidad cruzada entre el virus de la Encefalomyelitis Equina Venezolana y los virus Encefalomyelitis este y oeste y el Argentino. Bol. Inst. Inv. Vet. 1:49-72., 1941.
7. Correa, G.P.: Encefalitis Equina de Venezuela, Boletín del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, 1972.
8. Siger, J., Parra, V.D., Pulgar, G.E., Castañeda, J.: Conferencia Internacional sobre vacunas contra EEV y otros virus de Encefalitis Equina. Macaray, Venezuela, 11-17 de agosto., 1974.
9. Morilla, G.A. Encefalitis Equina Venezolana. Ciencia Veterinaria 1:163-204, 1976.
10. Mitchell, C.A., Walker, R. V. L., and Plummer, J.C.: Encephalomyelitis chick-embryo vaccine as a protective agent, Can. Jour. Comp. Med., 2:211-222, 1938.
11. Gilgard, R.T.: Clinical study of Venezuelan virus equine encephalomyelitis in Trinidad, R. W.T. Jour. Amer. Vet. Med. Ass. 54: 266-277., 1945.

12. Randall, R., Mills, J.W., and Engel .: The preparation and properties of a purified equine encephalomyelitis vaccines. Jour. Immunol., 55:41-52. 1974
13. Smith, D. G., Katz, H. H., and Wagner, J.C.: Venezuelan equine encephalomyelitis. Preparation and partial evaluation of a purified vaccine. Bact. Proc. 59. 1954.
14. Rondall, R., Maurer, F.D., and Smandel, J.E.: Immunization of laboratory workers with purified Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccine. Jour. Immunol., 63:313-318, 1949.
15. Sutton, L.S., and Brooke, C.C.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis due to vaccination. Jour. Amer. Med. Ass., 155:1473-1476., 1954.
16. Smith, D.G., Mamay, H. K., Marshall, R.G., and Wagner, J.C.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis. Laboratory aspects of fourteen human cases following vaccination and attempts to isolate the virus form the vaccine. Amer. Jour. Hyg., 63:150-164. 1956.
17. Polley, J.R.: The use of gamma radiations for the preparation of virus vaccine. Can. Jour. Microbiol., 8: 455-459, 1962.
18. Rertman, M., Tibble, J.R., and Green, L.: Gamma irradiated Venezuelan Equine Encephalitis vaccine. Appl. Microbiol., 19:763-767, 1970.
19. Gruber, J.: Purification and inactivation of Venezuelan Equine Encephalitis virus. Appl. Microbiol., 20:427-432, 1970.
20. Reitman, M., and Tonik, E.J.: Immunity to aerosol challenge in guinea pigs immunized with gamma-irradiated Venezuelan Equine Encephalitis vaccines. Appl. Microbiol., 21:688-692, 1971.
21. Gruber, J.: Immunogenicity of purified Venezuelan Equine Encephalitis virus inactivated by ionizing radiation. Infect. Immun., 3:574:579, 1971.
22. Musgay, M., Bergold, G.H., Wiland, E., and Verbershar, S.: Preparation and evaluation of inactivated Venezuelan Equine Encephalitis vaccines, Z.B.L. Vet. Med., 19:511-517, 1972.
23. Cole, F.E., May, S.W., and Robinson, D.M.: Formalin Inactived Venezuelan Equine Encephalomyelitis (Trinidad Strain) produced in rolling-bottle of chick embyo cells. Appl. Microbiol., 25:262-266, 1973.

24. Cole, F.E., May, S.W., and Eddy, G.A.: Inactivated Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccine prepared from attenuated (TC-83 Strain) virus. *Appl. Microbiol.* 27, 1:150-153, 1974.
25. Cole, E.E., Mc.Kinney, R.W.: Use of hamster for potency assay of Eastern and Western Equine Encephalitis vaccines. *Appl. Microbiol.*, 17:927-928, 1969.
26. Robinson, D.M., Berm, S., and Lowenthal, J.P.: Mouse potency assay for Western Equine Encephalomyelitis vaccines. *Appl. Microbiol.*, 23:104-107, 1972.
27. Conferencia Internacional sobre Vacuna contra la Encefalitis Equina Venezolana y otros virus de la Encefalitis Equina. Patrocinado por Ministerios de Sanidad Animal y Asistencia Social, Agricultura y Cría y Organización Panamericana de la Salud. Maracay, Venezuela, 11-17 de agosto, 1974.
28. Berge, T.O., Banks, I.S., and Tiggert, W.D.: Attenuation of Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus by and in vitro cultivation in guinea pig heart cells. *Am. J. Hyg.* 73:209-218, 1961.
29. Mc. Kinney, R.W., Berge, T.O., Sawger, W.D., Tiggertt, W.D., and Crozier, D.: Use of a attenuated strain of Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus for immunization in man. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* 12:597-603, 1963.
30. McConnell, S.: Desarrollo y control de las vacunas y virus vivo modificado para el control de la Encefalitis Equina Venezolana. Mesa redonda Internacional sobre Encefalitis Equina tipo Venezuela S.A.G., O.S.P., 12-14 marzo 1971.
31. Physical space and technical procedures for producing Venezuelan Equine Encephalitis vaccine live, attenuated. The National Drug Company. Division of Richardson-Marell Inc. August. 1967.
32. Alevizatos, A.C., Mc. Kinney, R.W., and Feigin, R.D.: Live attenuated Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus vaccine 1. Clinical responses of man to immunization. *Am. J. Trop. and Med. Hyg.* 16:762-768, 1967.
33. Eigin, R.D., Jolger, R.F., Mc. Kinney, R.W., and Alevizatos, A.C.: Live attenuated Venezuelan Encephalomyelitis virus vaccine II. Whole-blood amino-acid and fluorescent-antibody studies following immunization. *Am. J. of Trop. Med. and Hyg.*, 16:769-77, 1976.

34. Spertzel, R.O., and Kahn, D.: Safety and efficacy of and attenuated Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccine for use in equidae. *J.A.V.M.A.*, 159,6:731-739. 1971.
35. Walton, T.E., Alvarez, O., Buckwalter, R.M., and Johnson, K.M.: Experimental infection of horses with and attenuated Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccine (Strain TC-83). *Infect. Immun.*, 5:750-756, 1972.
36. Gochenur, W.S., Berge, T.O., Gelises, C.A., and Tiggert, W.D.: Immunization of burros with living Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus. *Am. Jour. Hyg.*, 75:351-362, 1962.
37. Walton, T.E., and Johnson, K. M.: Persistence of neutralizing antibody in equidae vaccinated with Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccine strain TC-83. *J.A.V.M.A.*, 161: 916-918, 1972.
38. Jochmin, M.M., Barber, T.L., Luedke, A.J.: Venezuelan Equine Encephalomyelitis: Antibody response in vaccinated horses and resistance to infection with virulent virus. *J.A.V.M.A.*, 162:280-283, 1973.
39. Henderson, B.E., Chappel, W.A., and Johnston, J.G.E.: Experimental infection of horses with three strain of Venezuelan Equine encephalomyelitis virus. I. Clinical and Virological Studies. *Amer. J. Epidemiol.*, 93:194-205, 1971.
40. Sudia, W.D., Newhouse, V.F., and Henderson, B.E.: Experimental infection of horses with three strains of Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus. II. Experimental vector studies. *Am. J. Epidemiol.*, 93: 206-211, 1971.
41. Mercado, S.S. y Batalla, C.D.: Estudios de revisión a la patogenicidad de la cepa vacunal de Encefalitis Equina Venezolana en caballos. *Tec. Pec. Méx.*, 19:69, 1972.
42. Luedke, A.J., Barber, T.L., Foster, N.M., Batalla, D., and Mercado, S.: Effect of back passage of Venezuelan Equine Encephalomyelitis TC-83 vaccine virus on clinical, virological and immune responses in horses. *J.A.V.M.A.*, 7:824-831, 1972.
43. Monlux, W.S., Luedke, A.J., and Brown, J.: Central Nervous System. Response of horses to Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccines TC-83. *J.A.V.M.A.*, 161:265-269, 1972.

44. Monlux, W.S., Luedke, A.J., Mercado, S., Rosales, C., and Ríos, R.: Effect of back passage of Venezuelan Equine Encephalomyelitis vaccine (TC-83) on the central nervous system of horses J.A.V.M.A., 161:832-833, 1972.
45. Taylor, W.M., and Buff, E.: Transmissibility of and attenuated Venezuelan Equine Encephalomyelitis Vaccine virus. J.A.V.M.A., 161:159-63, 1972.
46. Batalla, C.D., Mancisidor, N., Díaz, G.A. y Mercado, S.: Vacuna de virus vivo atenuado para la prevención de la Encefalitis Equina Venezolana en equinos. Tec.Pec. 19:68, 1972.
47. Batalla, C.D. y Mercado, S.S: Pruebas de inocuidad y antigenicidad en condiciones de campo de una vacuna de virus atenuado, contra la Encefalitis Equina Venezolana. Tec. Pec., 19:69, 1972.
48. Rosales, O.C., Arellano, S.C. y Batalla, C.D.: Ensayos sobre el uso de animales de laboratorio en la prueba de potencia de la vacuna contra la EEV TC-85. Resúmenes de la X Reunión Anual del I.N.I.P., 1972.
49. Rosales, O.C., Batalla, C.D. y Arellano, S.C.: Susceptibilidad del hámster a la cepa vacunal de EEV. Resúmenes de la XI Reunión Anual del I.N.I.P. Febrero 1974.
50. Díaz, G.A., Mancisidor, N. y Batalla, C.D.: Evaluación de dos métodos in vitro para la titulación del virus de la EEV. Tec. Pec. Méx., 19:68, 1972.
51. Batalla, D.C., Díaz G.A. y Mancisidor N.: Métodos in vitro para titulación del virus de la EEV. Tec. Pec. Méx. 23:25-28, 1972.
52. Batalla, C.D. y Mancisidor, N.: Evaluación de dos métodos in vitro para la titulación del virus de la EEV. Memorias del IV Congreso Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas, Cuernavaca, Mor. 1972.
53. Landeros, A. y Batalla, D.: Supervivencia del virus de la Encefalitis Equina Venezolana en lotes de vacuna, mantenidas en refrigeración. X Reunión Anual del I.N.I.P., 11-16 de febrero de 1974. México,D.F. 1974.
54. Batalla, D.C.: Modificación en la fórmula del estabilizador de la vacuna contra Encefalitis Equina Venezolana. Tec.Pec. 28:34-37, 1975.

55. Batalla, C.D., Mercado, S.A. y Landeros, V.A.: Efecto de la liofilización sobre la viabilidad del virus de la vacuna contra la EEV. Resúmenes de la XII Reunión Anual del I.N.I.P., Marzo 1975.
56. Batalla, C.D., 1975.: Modificaciones en la fórmula del estabilizador de la vacuna contra la EEV. Resúmenes de la XII Reunión Anual del I.N.I.P. Marzo 1975.
57. Batalla, C.D., Landeros, A. y Mancisidor, N.: Viabilidad de la vacuna contra la Encefalítis Equina Venezolana (TC-85) utilizando diferentes diluyentes. Tec.Pec. 27:46-50, 1974.
58. Landeros, A., Mancisidor, N. y Batalla, C.D.: Viabilidad de la vacuna contra EEV (TC-85) utilizando diferentes diluyentes. Resúmenes de la X Reunión Anual del I.N.I.P., Marzo 1973.
59. González, T.A., Batalla, C.D. y Félix, S.N.: Determinación de la inmunogenicidad de la cepa vacunal de EEV TC-83 en tercer pase. Memorias de la Reunión Anual del I.N.I.P., Diciembre 1981.
60. Batalla, C.D., Félix, S.N. y González, T.A.: Determinación de la inmunogenicidad de una cepa de EEV en tercer pase. Memorias del XI Congreso Nacional de Microbiología, Guadalajara, Jalisco, 1979.
61. Batalla, C.D., Félix, S.N. y González, T.A.: Determinación de la inmunogenicidad de una cepa de EEV en tercer pase. II Convención y Exposición Nacional de Salud Animal. X Reunión Anual de Sanidad Animal, México, D.F., julio 1981.
62. Batalla, C.D., Félix, S.N. y González, T.A.: Determinación de la inmunogenicidad de una cepa de EEV en tercer pase. II Convención y exposición Nacional de Salud Animal. X Reunión Anual de Sanidad Animal, México, D.F., julio 1981.
63. Mercado, S. y Batalla, C.D., 1972: Detección de la actividad viral de EEV, EEO y EEV en diferentes regiones del país. Tec. Pec. Méx, Resúmenes de la Reunión Anual del I.N.I.P., marzo 1973.
64. Batalla, C.D., Mercado, S., Díaz, G.A. y Mancisidor N.: Observaciones de la efectividad de la vacuna contra EEV en condiciones de campo. Resúmenes de la Reunión Anual del I.N.I.P., marzo 1973.
65. Batalla, C.D., Mancisidor, N., Díaz, G.A. y Mercado, S.S.: Vacuna de virus vivo modificado para la prevención de la EEV en equinos. IV Congreso Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas, Cuernavaca, Morelos, 1972.

66. Batalla, C.D.: Prevención de la Encefalitis Equina. VIII Congreso Nacional de Microbiología, Morelia Michoacán, Diciembre 1972.
67. Mercado, S.S., De Paz, O., Green, A., Martell, D. M. y Batalla C.D.: Avances en el desarrollo de una vacuna inactivada contra la EEV. Resúmenes de la Reunión Anual del I.N.I.P., Diciembre 1979.
68. Batalla, C. D.: Vacuna de virus vivo modificado para la prevención de EEV. En *Memorias del V Día del Ganadero.*, Centro Experimental Pecuario de Paso del Toro, Veracruz, 1971.
69. Batalla, C.D.: Producción de vacuna contra la EEV. Número Especial de Sanidad Animal, S.A.G., I Reunión Anual de Sanidad Animal., p. 154-155, febrero 1972.
70. Batalla, C.D. y Mercado, S.: Detección de la actividad viral de la Encefalitis Equina del Este (EEE), Oeste (EEO) y Venezuela (EEV), en diferentes regiones del país. *Téc. Pec. Méx.*, 25:26, 1975.
71. Gallo, T.M., Bautista, G.A., Zárate, M.L., Rosales, O.C. y Morilla, G.A.: Evaluación de la respuesta serológica de los bovinos al virus de la Encefalitis Equina Venezolana, infectados en forma natural y experimental. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 84:10-19, 1979.
72. Correa, G.P., Ríos, R., Mercado, S. y Batalla, C.D.: Algunos aspectos epizootiológicos de los brotes de EEV, ocurridos en México. Resúmenes de la IX Reunión Anual del I.N.I.P., enero 1972.
73. Díaz, G.A., Batalla, C.D., Mercado, S. y Mancisidor, N.: Pruebas de hemaglutinación y seroneutralización en el estudio de la EEV. Resúmenes de la XI Reunión Anual del I.N.I.P., febrero 1974.
74. Mercado, S.A., Rosales, O.C. y Batalla, C.D.: Detección de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación de la EEV en sueros de bovinos procedentes de diferentes regiones del país. Resúmenes de la IX Reunión Anual del I.N.I.P., febrero 1974.
75. Correa, G.P., Ríos, R.R., Mercado, S.S. y Batalla, C.D.: Algunos aspectos epizootiológicos de los brotes de EEV ocurridos en México. IV Congreso Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas, Cuernavaca, Morelos, 1972.

76. Schoeder, V., Batalla, C.D. y Morilla, G.A.: Pasado, presente y futuro de la EEV en México, Congreso Nacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas, México, D.F. 1976.
77. Batalla, C.D.: Centro Nacional de Referencia en Rabia y EEV. Reunión de Epizootiología de la SSA-IMSS., México, D.F., 1982.
78. Batalla, C.D.: EEV. Epizootiología y vacunas, Reunión de la Asociación de Microbiología, junio 1982., Guadalajara, Jalisco, 1982.
79. Batalla, C.D., Mercado, S.S., Gutiérrez, C., Martínez, H.: Aislamiento del virus de la EEV a partir de saliva, lágrima y cerebro de vampiros inoculados experimentalmente. Resúmenes de la XI Reunión Anual del I.N.I.P., febrero 1974.
80. Batalla, C.D.: Vacuna de Encefalitis Equina Venezolana. Ciencia Veterinaria, 1:205-221, 1976.
81. Batalla, C.D.: Vacuna de virus vivo modificado para la prevención de la EEV., Conferencia Internacional sobre Producción y Control de Vacunas para Encefalitis Equina, agosto 1974, Maracay, Venezuela, 1974.
82. Batalla, C.D.: Vacuna de virus vivos modificado para la prevención de la EEV en Equinos. I. Seminario Internacional sobre Producción y Control de Biológicos veterinarios para México., Centro América y Panamá., México agosto 1975.
83. Oberste, M.S, Fraire, M., Navarro, R., Zepeda, C., Zárate, M. L., Ludwig, G.V, Konding, J. F., Weaver, S. C., Smith, J. F., Rico-Hesse, R.: Association of Venezuelan Equine Encephalitis virus Subtype IE with two equine epizootics in Mexico., AM. J. of Trop. Med. And Hy., 59:1, 100-107, 1998.

XVII BASES PARA LA INSTRUMENTACION DE UN SISTEMA DE INFORMACION Y VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN LA REGION DE LAS AMERICAS

Alfonso Ruiz, Ismael Zufiga , Eduardo Alvarez

INTRODUCCIÓN	302
ASPECTOS GENERALES	303
Encefalitis Equina Venezolana (EEV).....	304
VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA - GENERALIDADES	304
ELEMENTOS PARA LA VIGILANCIA	305
1. Ecología Local.....	305
2. Dinámica estacional.....	306
3. Monitoreo de datos meteorológicos.....	306
4. Vigilancia de los huéspedes vertebrados.....	307
5. Vigilancia de los casos de Equidos.....	308
6. Vigilancia de los mosquitos.....	309
7. Vigilancia de casos humanos.....	310
DIAGNOSTICO DE LABORATORIOS	313
1. Muestras.....	313
2. Detección de anticuerpos.....	313
3. Aislamiento del virus.....	314
SISTEMA DE INFORMACION	315
1. Definiciones.....	315
2. Aspectos Organizativos.....	316
3. Operación del sistema.....	319
4. Salida de Información del Sistema.....	321
5. Flujo de información.....	323
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	324
ANEXOS	326

NOTA EDITORIAL

La presente guía ha sido elaborada con base al documento "Guidelines for Arbovirus Surveillance in the United States" del Departamento de Salud y Servicios Humanos del Centro para Prevención y Control de Enfermedades (CDC) y del Sistema de Información y Vigilancia de las Encefalitis Equina Venezolana del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) de Colombia.

Ello conlleva a uniformar criterios y procedimientos para hacer más eficaz la vigilancia de las encefalitis equinas en el hemisferio.

GUIA PARA EL SISTEMA DE INFORMACION Y VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA PARA LA REGION DE LAS AMERICAS

INTRODUCCION

En los últimos 15 años la notificación de casos compatibles con encefalitis equinas ha sido esporádica, sin comprometer poblaciones significativas a excepción del brote epidémico de 1995 en Colombia y Venezuela que afectó a más de 40,000 personas causando 46 fallecimientos en los dos países. No fue posible obtener datos sobre la morbilidad y mortalidad en equinos..

En general hay desconocimiento en lo referente al diagnóstico y al tipo y manejo de muestras necesarias. Las comunidades no están conscientes de la necesidad de la notificación oportuna de casos en los caballos.

Los daños causados principalmente por la EEV son difíciles de valorar por sus efectos directos e indirectos y por la dificultad de obtener datos reales de cada epizootia, como se señaló en el párrafo anterior.

Por otra parte, falta un mayor conocimiento sobre la epidemiología de la enfermedad, como por ejemplo: la existencia de nuevas variantes del virus, los reservorios silvestres, tipos de vectores involucrados en el ciclo enzótico, y a la duración de la inmunidad causada por la vacuna TC-83.

Los sistemas de información existentes en los países, se han limitado únicamente a la notificación de casos de enfermedad encefálica ubicándolos en tiempo y espacio pero sin tener la confirmación diagnóstica y sin hacer la investigación del foco.

Aunque existen pruebas diagnósticas que permiten la identificación y diferenciación de los virus causantes de las encefalitis, la mayoría de los países latinos carecen del servicio de diagnóstico y solo se valen de signos encefalíticos compatibles y en ocasiones de pruebas histopatológicas para sospechar su presencia. (18)

Igualmente, en muchos de estos se aplica la vacuna TC-83 de comprobada eficacia, que produce importantes períodos de inmunidad aún no determinados y que ha resultado de gran utilidad en el control de epizootias, pero que ha sido manejada en forma indiscriminada tanto en áreas consideradas de riesgo, como en áreas sin antecedentes de ocurrencia de encefalitis.

Con base a los programas de prevención y control de Encefalitis Equina Venezolana (EEV) existentes en la mayoría de los países de la región, se propone instrumentar un sistema uniforme de información y vigilancia epidemiológica para las encefalitis con la participación de los servicios oficiales de salud pública y sanidad animal. Ello hará comparable los datos entre los diferentes países y regiones, para comprender mejor el comportamiento y la dinámica espacial y temporal de esta

enfermedad. En el presente documento se incluyen los elementos epidemiológicos necesarios, para mantener una información útil para la toma de decisiones tendientes a mejorar las acciones de prevención y control de la enfermedad. Se destaca la intervención de los servicios de diagnóstico para la vigilancia epidemiológica de las encefalitis. Se proponen elementos para la caracterización de ecosistemas de riesgo y se concluye proponiendo aspectos administrativos y operativos para el manejo de la información, haciendo énfasis en que esta debe enmarcarse en los sistemas de información ya existentes en los países.

PROPOSITOS:

Recomendar las bases científicas, y acciones correspondientes para el desarrollo de programas de vigilancia epidemiológica con el fin de prevenir epidemias de Encefalitis Equina Venezolana y reducir el impacto socio-económico causado por la enfermedad.

OBJETIVOS:

- Estimular la notificación e investigación de focos de encefalitis equinas.
- Estimular el uso del laboratorio de diagnóstico para confirmación de síndromes compatibles de encefalitis equinas.
- Investigar los focos enzoóticos y áreas de riesgo para identificar factores asociados útiles para la predicción de brotes y epidemias.
- Incentivar el análisis e interpretación de datos y difundir la información.

ASPECTOS GENERALES

Las encefalitis equinas constituyen un grupo de enfermedades, causadas por *arbovirus* de la familia *Togaviridae* que revisten una importancia socioeconómica para los países del hemisferio occidental. Entre ellas, son de mayor importancia, por su distribución y daños que causan en las Américas. la encefalitis equina del este (EEE), la encefalitis equina del oeste (EEO) y la encefalitis equina venezolana (EEV). De las tres mencionados la EEV, reviste la mayor importancia por su patogenicidad en los humanos y las características de las epizootias y epidemias causadas en el pasado que han trascendido las barreras naturales para extenderse por casi todo el continente. Las tres enfermedades se encuentran en la lista B del Código Zoosanitario Internacional de Epizootias, que compromete a los países a mantener sistemas de vigilancia e información.

(1)

Un cuarto miembro de este grupo ha sido descrito en el sureste de los Estados Unidos y ha sido referido como el virus Highland J., que afecta solo a los equinos. (7).

Encefalitis Equina Venezolana (EEV)

El agente causal de la EEV fue aislado por primera vez en 1938 en caballos del estado Aragua, Venezuela. Se ha informado de la ocurrencia de brotes durante 11 años en el período 1935 a 1961 y en todos los años de 1962 a 1973. Grandes epizootías se presentaron en Colombia, Venezuela, Trinidad y Perú entre 1955 y 1959. (1) (18)

La onda epizootica mas dramática fue la de 1969, que se difundió de Ecuador a Guatemala y se extendió a los otros países de Centro América y México, llegando en junio de 1971 a Texas, Estados Unidos de América. En solo 2 años la epidemia cubrió una distancia de 4,000 Km y ocasionó decenas de miles de casos humanos y considerable morbilidad y mortalidad en equinos. Esta severa epidemia de EEV motivó a los países miembros de la Organización a la aprobación de una resolución, en la IV Reunión Interamericana sobre el Control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis (RICAZ), celebrada en 1971, para crear un servicio de vigilancia epidemiológica encargándose de su ejecución al Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO). En los años siguientes esta decisión ha sido ratificada y ampliada en la RICAZ V (1973) y RICAZ VI (1975).

La EEV se presenta en la naturaleza en focos enzoóticos y epizoóticos. En los enzoóticos o silvestres el virus puede tener actividad continua y permanecer por períodos indefinidos. Su ciclo lo hace en roedores y aves con intervención de un número importante y variado de mosquitos. Las epizootías de EEV ocurren en épocas de lluvias en las regionales tropicales y subtropicales de América, después de un número de variable de años de silencio aparente.

Durante las epizootías la enfermedad afecta a un gran número de équidos en los que cursa con alta morbi-mortalidad habiendo una extensa multiplicación del virus que en un corto período después pasa a los humanos.

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA - GENERALIDADES

La vigilancia tiene por finalidad detectar oportunamente cualquier actividad de los virus de las encefalitis equinas para predecir y prevenir epizootías y casos humanos.

La vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas debe considerar el monitoreo de los niveles de actividad viral, las poblaciones de vectores, infecciones en huéspedes vertebrados, casos humanos, clima y otros factores para detectar o predecir cambios en la dinámica de transmisión de los agentes virales (6). Los factores biológicos y ecológicos tienen gran influencia sobre el comportamiento temporal e intensidad de los ciclos de los virus. Las condiciones ambientales óptimas favorecen el rápido crecimiento de los vectores y la amplificación del virus en los solpedos. El programa de vigilancia, por lo tanto requiere un profundo conocimiento sobre la biología, ecología e interacciones de los huéspedes vertebrados y los mosquitos.

El indicador más común de la inminencia de un brote de encefalitis equina es la aparición de casos clínicos en los solpedos. La posibilidad de que ocurra una epizootía

dependerá de las características epidemiológicas de cada una de las encefalitis y de la proporción de la población equina inmunizada para el virus específico.

El virus de la VEE es el que reviste mayor preocupación dada la alta morbilidad y letalidad que llega a causar en los solípedos y su importancia como agente patógeno para el hombre. Es de esperar que las regiones en donde previamente se ha presentado actividad epizootica vuelva a ser teatro de ella cuando con el paso de los años la población de equinos sobrevivientes inmunes vaya siendo reemplazada por animales susceptibles. La experiencia enseña que mapas como los que se basan en el sistema de Holdridge permiten identificar las regiones en donde pueden surgir brotes epizooticos y recíprocamente aquellas que permanecen indemnes.

Los datos requeridos para estimar el riesgo de transmisión a los humanos se encuentra en diferentes instituciones, de ahí que el sistema debe considerar un estrecho intercambio de información intersectorial e interinstitucional.

El sistema de vigilancia debe ser proactivo, diseñado para proveer información y alertar a las autoridades de salud sobre cualquier actividad epidémica oportunamente, buscando predictores con el fin de dar inicio a las actividades de prevención y control.

ELEMENTOS PARA LA VIGILANCIA

Los siguientes elementos, independientemente o en conjunto pueden ser tenidos en cuenta para aumentar la capacidad predictiva de los programas de vigilancia de las encefalitis equinas: Ecología local; dinámica estacional; el monitoreo de los datos meteorológicos; vigilancia en los huéspedes vertebrados; vigilancia de los casos equinos; vigilancia de los casos humanos y vigilancia de los vectores.

1. Ecología Local

Las localidades varían en topografía, clima, vegetación y suelo, que a su vez influyen sobre la distribución y población de los vectores, variabilidad de, huéspedes vertebrados, estado de inmunidad de los huéspedes, etc. Asimismo estas características cambian con el tiempo. La variación espacial y temporal de una localidad específica es denominada "Patch dynamics".(6) (28) Por lo tanto se requiere establecer una serie de datos básicos sobre las diversas localidades por períodos prolongados (5 ó más años) para aumentar la capacidad predictiva de los sistemas de vigilancia.

Una vez se disponga de la base de datos se puede expresar la abundancia de vectores y huéspedes susceptibles como desviaciones en un período pre-determinado de una estación (mensual, semanal).

Las modificaciones ecológicas deben ser tenidas en cuenta cuando se crean condiciones favorables para la aparición de brotes como en lugares donde se desarrollan planes de irrigación o nuevas plantaciones de arroz, u otras obras de desarrollo que modifican sustancialmente los ecosistemas.

Usualmente los brotes epidémicos de EEV ocurren en zonas tropicales o subtropicales donde las lluvias son estacionales y favorecen la formación temporal de criaderos de

los mosquitos vectores. Estas zonas corresponden a las denominaciones: matorral desértico, monte espinoso; bosque muy seco y bosque seco.

Por el contrario, las situaciones de endemidad corresponden a aquellas zonas en las cuales existen condiciones continuas que favorecen una población permanente de mosquitos vectores, como es el caso de pantanos, márgenes fluviales o de ciénagas o situaciones análogas en donde hay abundante vegetación acuática como lechuga de agua (*Pistia stratiotes*) que es propicia para la cría de Culex (Melanoconion) de diversas especies, que actúan como transmisores entre vertebrados silvestres, entre los cuales juegan papel importante roedores pequeños. (Sigmodon, Proechmys, Zigodontomys, Hetromys). Estas zonas en los mapas mencionados corresponden a Bosque Húmedo y Bosque muy húmedo (22). En ellas no es de esperar brotes epidémicos, a no ser con el ingreso de poblaciones humanas o equinas susceptibles, como sucede en el caso de nuevos asentamientos y desarrollo de planes de colonización.

2. Dinámica estacional

Los predictores para la ocurrencia de epidemias varían en los diferentes períodos del año.

Los factores climatológicos son los predictores más útiles y tempranos de una epizootia, ya que ellos influyen en el tamaño de las poblaciones de mosquitos vectores. Para los países del área tropical o subtropical, se considerarán las temperaturas del verano, y en el invierno la época de lluvias, dependiendo de los virus, vectores y regiones. Ej: En la región noroeste del Perú, el régimen de lluvias es bastante bien definido; se inicia en enero y continúa hasta abril con un máximo de precipitación entre febrero y marzo.

Los predictores de mediana estación deben considerar la estimación de las poblaciones de vectores y huéspedes vertebrados y evidencia de la transmisión viral temprana en el ciclo natural.

Los predictores tardíos estacionales consisten en la evidencia de la propagación del virus en animales centinelas, vectores y animales domésticos, particularmente en los equinos (6).

3. Monitoreo de datos meteorológicos

La gran variedad de factores ecológicos locales que influyen la transmisión de los virus de las encefalitis equinas, complican el uso de los datos meteorológicos para predecir epizootias y epidemias. Los diversos huéspedes vertebrados y especies de vectores responden a los cambios meteorológicos en múltiples formas, dependiendo de la localización geográfica y otros factores. La combinación de la precipitación pluvial y temperatura puede ser estudiada en ciertas localidades, aunque las variaciones pueden ser extremas en una determinada localidad (5). Huracanes, e inundaciones, sin embargo, deben ser considerados como factores predictores para epizootias y epidemias.(23).

Las corrientes de los vientos pueden contribuir a la dispersión de importantes especies de mosquitos a localidades distantes. Sin embargo ello no deja de ser solo una hipótesis dada la dificultad de comprobar la trayectoria de la infección viral por este medio de una población equina y humana a otras. (25)

4. Vigilancia de los huéspedes vertebrados

Los animales vertebrados silvestres pueden ser huéspedes de un gran número de arbovirus entre ellos los de las encefalitis equinas. Además de que pueden ser reservorios de virus aún no detectados.

Se conoce un gran número de huéspedes vertebrados tanto silvestres como domésticos para los virus de las encefalitis equinas. Ello, sin embargo varía de acuerdo a las localidades y regiones, habitats, clima etc. (1) (9) (10) (14) Por lo tanto el uso de una sola especie animal como centinela o para aplicación de un solo método de vigilancia no puede ser eficaz para todas las áreas, especialmente si se sospecha la existencia endémica de dos o más arbovirus. Por ejemplo en el oeste del Estado de Texas en los Estados Unidos, el número de casos de EEO en humanos está más relacionado con las tasas de aislamiento del virus en gorriones que con la densidad de vectores o condiciones ambientales. (6)

Los focos naturales de infección enzoótica de EEV se encuentran en las selvas húmedas de América tropical e involucran roedores silvestres, entre los cuales se han identificado especies de Sigmodon, Oryzomys, Peromyscus y Proechimys y algunos marsupiales (1).

De esta manera la identificación y caracterización de focos enzoóticos es una necesidad. La vigilancia de arbovirus utiliza una gran variedad de especies de aves y mamíferos. Lo importante es conocer en cada área enzoótica, las poblaciones de especies abundantes que puedan estar infectadas con el virus sujeto a la vigilancia.

Es aconsejable obtener información sobre la población relativa de estas especies animales y el potencial de reproducción así como las tasas de infección en las especies de huéspedes vertebrados. Esta información será útil para el diseño del sistema de vigilancia que se ajuste a las condiciones y necesidades locales. (4) (6) (14) (27).

La selección de un huésped vertebrado en la vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas debe estar basada en las características propias que define a un buen reservorio de arbovirus, entre las cuales se mencionan las siguientes:

- a. Susceptibilidad al virus que está bajo vigilancia.
- b. Respuesta prolongada de anticuerpos y con títulos elevados.
- c. Baja morbilidad y mortalidad.
- d. Población local abundante
- e. Alta movilidad local para aumentar exposición y diseminar el virus.
- f. Exposición frecuente a los vectores
- g. Atractivo y tolerante para la alimentación del vector

- h. De fácil captura por métodos convencionales.
- i. Fácilmente manejable para obtener muestras sanguíneas
- j. Facilidad para determinar edad o para marcarlo cuando hay necesidad de hacer capturas múltiples.
- k. De larga vida para facilitar la obtención de muestras en el mismo animal.

Los animales centinelas son usados para la detección de focos enzoóticos estableciendo la presencia del virus y para monitorear los cambios temporales y espaciales en un área determinada. El hámster ha demostrado ser un centinela eficaz para la vigilancia de EEV. El uso de animales centinelas tiene sus ventajas y desventajas.

Entre las ventajas se citan: dar a conocer el tipo y lugar exacto de la exposición y asegurar la uniformidad para la selección del habitat, edad, origen de los animales y período del muestreo. Entre las desventajas se mencionan, que el método es costoso, poco viable para la mayoría de los países de América Latina y el Caribe, limitando además el área geográfica de cobertura.

Las áreas de vigilancia deben ser igualmente definidas, con miras a proteger la salud humana. Previendo la multiplicación del virus de EEV en los equinos. Así los programas de vigilancia pueden cubrir áreas donde hay mayor concentración de equinos, cercanas a centros urbanos o pueden desarrollarse alrededor de focos enzoóticos detectados en el pasado

Los animales centinelas son usados para la detección de focos enzoóticos estableciendo la presencia del virus y monitorear los cambios temporales y espaciales en una área determinada. El hámster ha demostrado ser un centinela eficaz para la vigilancia de EEV.

La ventaja del uso de animales centinelas es dar a conocer el tipo y lugar exacto de la exposición y asegurar la uniformidad para la selección del habitat, edad, fuente de los animales y período del muestreo. Sin embargo el método es costoso, limitando además el área geográfica de cobertura.

5. Vigilancia de los casos de Equinos

La vigilancia de los casos equinos en las áreas con poblaciones susceptibles de caballos, asnales y mulares provee la información más práctica y sensitiva para el reconocimiento de riesgo para la salud pública, especialmente en localidades donde no hay registro de actividad del virus en animales silvestres o en mosquitos. La información básica debe reunir los siguientes datos: población equina; tasas de reproducción; movimientos comerciales para exhibición o deportiva y datos sobre las coberturas de vacunación. (20)

La notificación de síndromes compatibles con encefalomiелitis en equinos debe ser estimulada y debe alertar la intervención de los veterinarios de salud y/o agricultura para investigar cada evento que se presente. La vigilancia activa requiere promover la notificación de casos de

equinos sospechosos y la colección de muestras sanguíneas para confirmación del diagnóstico por el laboratorio.

Es aconsejable hacer evaluaciones periódicas del riesgo de epizootias de EEV u otras encefalitis existentes en la región, lo cual se basa en la determinación de la inmunidad por medio de encuestas seroepidemiológicas en la población equina. Ello requerirá una información adecuada sobre el estado de las vacunaciones aplicadas a la población equina local.

Además, es importante considerar la estratificación del muestreo, estableciendo por lo menos dos categorías fundamentales: una constituida por animales expuestos a una epizootia previa o vacunados (inmunes) y otro grupo constituido por animales nacidos después de la epizootia (susceptibles).

Es entendible que a medida que los animales inmunes van siendo reemplazados por susceptibles, la posibilidad de un nuevo brote crece.

6. Vigilancia de los mosquitos

La vigilancia entomológica se emplea para determinar los cambios en la distribución geográfica del vector, para obtener mediciones relativas de la población de vectores a lo largo del tiempo y para facilitar las decisiones adecuadas y oportunas en lo referente a intervenciones. Puede servir para identificar las zonas de alta densidad de infestación o los períodos de aumento de poblaciones. En las zonas donde el vector no está presente, la vigilancia entomológica es crucial para detectar rápidamente nuevas introducciones antes de que se generalicen y sean difíciles de eliminar.

La vigilancia de los mosquitos vectores, consiste básicamente en dos actividades:

- a. Identificar los criaderos de larvas y localizarlos en mapas cartográficos. Ello provee estimaciones precoces de futuras densidades de mosquitos adultos y asimismo provee información para eliminar los mosquitos en el estado larval.

El mapeo de los diferentes habitats óptimos para la cría de larvas de mosquitos constituyen la línea de base para cualquier acción que deba definirse para el control de los mosquitos. Estos mapas deben actualizarse periódicamente para mostrar la ubicación de los principales sitios de cría de mosquitos así como aquellos que poseen altas densidades de adultos. Para ello pueden usarse también los sistemas computarizados de información geográfica (GIS).

- b. Monitoreo de la actividad de adultos. El monitoreo de especies, densidad, estructura etaria y tasas de infección viral en adultos provee datos predictivos precoces para el sistema de vigilancia de las encefalitis equinas (6) (8).

Las estaciones para captura de mosquitos deben colocarse alejadas de los habitats larvales para reducir el número de machos y hembras jóvenes. Una elevada proporción de machos en una colecta indica generalmente un habitat larvario en las cercanías.

Los datos sobre colecta de adultos y de larvas deben ser puestos en gráficas para mostrar la densidad de los mosquitos en función del período para cada estación de captura. El uso de estos datos es importante para programar y evaluar las actividades de control. (13) (24).

El mantenimiento de la transmisión de los arbovirus depende fundamentalmente de las tasas de sobrevivencia de las hembras. Las hembras más viejas que se han alimentado y adquirido el virus viven tiempo suficiente para transmitir la infección. De modo que los programas de vigilancia deben asumir que las hembras más viejas están presentes en una proporción más o menos constante en la población total de mosquitos (Ej: una distribución etarea estable) y por lo tanto el recuento total del atrape tiene una relación directa con las actividades de transmisión de los arbovirus, aunque ello no todas las veces es válido, ya que deben tomarse en cuenta otros factores como la competencia entre las diversas especies de mosquitos por la disponibilidad de nutrientes en algunas habitats larvales. La reducción de la tasa de sobrevivencia larval conduce proporcionalmente a una población menor de adultos. Los adultos que emergen de situaciones altamente competitivas son más pequeños y menos robustos. (6)

La longevidad de los adultos es dependiente de la densidad poblacional de las larvas. Entonces la correlación entre la abundancia de vectores viejos y la transmisión de arbovirus tiene mayor importancia que las tasas entre el total de los vectores y la transmisión

En lo referente a los vectores involucrados en los ciclos epizooticos, es aconsejable establecer recolecciones anuales, cuando las lluvias estacionales favorecen su proliferación. Los sistemas de colección de mosquitos son variados. En el Anexo No. 2 se incluyen algunos métodos.

Se han descrito varios géneros y especies de mosquitos con capacidad de transmitir el virus de EEV durante las epizootias: *Aedes scouplaris*; *A. taeniorhynchus*; *Anopheles pseudopunetipennis*; *Aedes sollicitans*; *Culex nigripalpus*; *Culex quinquefasciatus*; *Mansonia titillans*; *Deinocerites pseudus*; *Psorophora confinis*. El incremento de estas poblaciones deben ser consideradas como elementos de alerta

7. Vigilancia de casos humanos

El propósito primordial de la vigilancia de las encefalitis equinas es el de proveer información para la prevención de los casos humanos.

La coordinación e intercambio de datos entre los diversos sectores e instituciones son esenciales para que el sistema de vigilancia opere adecuadamente.

Cuando se encuentre un incremento de actividad de arbovirus en la población equina o de mosquitos, se debe notificar de inmediato a los servicios locales o nacionales de salud. Asimismo, los encargados del control de vectores deben ser notificados cuando hay casos sospechosos de encefalitis en humanos.

En áreas o localidades, donde se reporte actividad viral de EEV o de algún síndrome encefálico en equinos, deberá hacerse la vigilancia de casos febriles humanos en hospitales, y centros de salud en general. Muestras sanguíneas de estos pacientes deben ser obtenidas, para confirmación diagnóstica por el laboratorio. La presentación clínica puede ser variada y es indistinguible de otras formas de encefalitis viral. Todo caso clínico humano que presente fiebre

combinada con signos neurológicos como cefalea intensa, somnolencia, náuseas, vómito, pueden ser considerados probable de EEV y debe ser notificado. La parálisis de nervios pares craneanos, particularmente el III y IV son frecuentes y pueden acompañarse de convulsiones y coma. (15)

Con el propósito de notificación, los datos clínicos deberán ser obtenidos de modo que reúnan los requisitos señalados por el sistema de vigilancia. De tales pacientes, el médico deberá obtener muestras de suero y líquido cefalorraquídeo durante la fase aguda (1-7 días después de la aparición de los signos) y en la fase de convalecencia (> 14 días después de iniciados los signos). Los principales datos requeridos sobre el paciente son: edad, sexo y lugar de residencia.

La actividad creciente de EEV en la población equina puede predecir el desarrollo de un brote en humanos. El CDC ha descrito 5 categorías sobre la probabilidad de brotes de arbovirus y la respuesta recomendada que bien puede utilizarse para EEV. (6) Para efecto de la vigilancia de EEV en países del trópico y subtropical se han seleccionado cuatro categorías. Cuadro No.1

Teniendo presente la similitud clínica de EEV con Dengue, que a menudo coinciden las dos infecciones en algunas áreas, la investigación del brote debe incluir la identificación de los vectores involucrados, que puede ayudar a la identificación de la enfermedad así como en la localización de la infección y selección de las medidas de control.

Categorías de riesgo de brotes de EEV y respuestas recomendadas

Categoría	Probabilidad de brote	Definición	Respuesta Recomendada
0	Ninguna	Clima inapropiado, vectores adultos inactivos	Ninguna
1	Remota	Verano; vectores adultos activos pero no abundantes; temperatura ambiente no es satisfactoria para el desarrollo viral en los vectores	Usar Larvicidas en lugares identificados por encuestas entomológicas; mantener vigilancia de virus y vectores
2	Posible	Abundancia focal de vectores, temperaturas adecuadas para la incubación; seroconversión en huéspedes centinelas	Respuesta: aumentar uso de larvicidas en áreas urbanas; iniciar uso selectivo de fumigación para adultos; aumentar vigilancia de virus y vectores
3	Probable	Abundante población de vectores adultos en la mayoría de las áreas; confirmación de casos equinos; condiciones óptimas para incubación y sobrevivencia de los vectores	Implementar control de emergencia: Fumigación para adultos en áreas de alto riesgo; desarrollar programas para información a la comunidad y uso de repelentes, protección personal, evitar áreas de alta actividad del vector; iniciar vigilancia de casos humanos en hospitales y centros de salud.
4	Brote en proceso	Confirmación de casos humanos	Continuar con el plan de emergencia: Concretar los recursos disponibles para control de mosquitos adultos en áreas de riesgo; mantener la información al público; mantener vigilancia de virus/vector y casos humanos.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

La confirmación del diagnóstico clínico por el laboratorio se hace por aislamiento e identificación del virus, detección del antígeno o de anticuerpos específicos, IgM o IgG.

1. Muestras

Las muestras para confirmación diagnóstica pueden ser sangre completa, suero, líquido cefalorraquídeo, o tejidos. Si estas muestras no se pueden procesar de inmediato, se deben colocar en hielo seco (-70°C) si se desea hacer el aislamiento del virus. La muestra de suero para detección de anticuerpos puede ser remitida al laboratorio en refrigeración.

2. Detección de anticuerpos

Las técnicas serológicas como único medio de diagnóstico deben utilizarse con precaución y usualmente requieren buena historia clínica y/o muestras pares (22).

Con las técnicas clásicas de diagnóstico serológico: inhibición de la hemaglutinación (IH) y seroneutralización (SN) se considera confirmativo el resultado cuando hay un aumento de cuatro veces en el título de anticuerpos entre muestras de suero tomadas en la fase aguda y la fase de convalecencia.

Hoy día se dispone de la técnica de ELISA para detección de antígenos y anticuerpos IgG e IgM aplicable tanto para humanos como para equinos. Es una técnica relativamente fácil de usar, en especial para el diagnóstico de gran número de muestras. Además, la presencia de anticuerpos IgM y antígenos específicos en el suero, denotan una infección reciente, lo cual es una herramienta para la vigilancia. (11)

La detección de antígenos vírales puede hacerse igualmente durante los primeros siete días después de iniciados los signos, mediante el uso de las técnicas de ELISA.

Los anticuerpos son detectables solo después de la fase de viremia. Los anticuerpos del tipo IgM aparecen alrededor de los tres días después de iniciados los síntomas y permanecen alrededor de 70 a 90 días. Su presencia, por lo tanto sirve de indicador de una infección reciente. Niveles detectables de anticuerpos del tipo IgG aparecen después de la desaparición de los IgM y pueden ser detectados por las pruebas de la inhibición de la hemoaglutinación, fijación del complemento o seroneutralización. Estos últimos anticuerpos persisten en el individuo por meses o años, por lo cual la presencia de anticuerpos IgG no implican una infección reciente.

La presencia de IgG en el feto o en el neonato indican la transferencia pasiva de IgG a través de la placenta.

La medición de IgM en el líquido cefalorraquídeo (LCS) es muy útil para el diagnóstico. El hallazgo de anticuerpos IgM en el LCS confirma la respuesta a la infección en el sistema nervioso central y es un indicador para el pronóstico de la encefalitis.

La prueba de Inhibición de la hemaglutinación (IH) es útil como prueba de tamizaje, aunque varios virus del mismo serogrupo pueden ser positivos a esta prueba.

La fijación del complemento (FC) es una prueba más específica, pero compleja. Los anticuerpos fijadores del complemento aparecen temprano en la enfermedad y suelen tener títulos más bajos que los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación. El hallazgo de anticuerpos FC indican reciente infección en un individuo y puede utilizarse como una evidencia presuntiva de infección reciente.

3. Aislamiento del virus

Para el aislamiento del virus se requieren laboratorios que posean facilidades de biocontención.

El aislamiento del virus de EEV puede hacerse dentro de los días 5 a 7 después de iniciados los síntomas

Aún se utilizan en los laboratorios los métodos tradicionales para aislamiento de arbovirus. Los ratones lactantes han sido usados en el diagnóstico para amplificar el virus de especímenes de tejidos animales y de mosquitos. Los ratones son inoculados con suspensiones de los especímenes por vía intracraneal. Sin embargo cultivos celulares de mosquitos, particularmente C6/36 (Aedes albopictus), AP-61 (Aedes pseudoscutellaris) y otras líneas celulares son usadas con mayor frecuencia para aislamientos virales. El aislamiento del virus EEV puede hacerse en fibroblastos de embrión de pollo o en células VERO.

Los virus aislados son tipificados por pruebas serológicas incluyendo la hemaglutinación de glóbulos rojos de ganso y fijación del complemento con preparaciones de anticuerpos homólogos y captura de antígenos por ELISA. El uso de la técnica de la inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales facilita la identificación del virus. Las pruebas incluirán anticuerpos específicos para:

- a. Virus representantes de varios serogrupos
- b. Virus sospechosos como agente causal de la enfermedad
- c. Virus conocidos como endémicos en el área de procedencia de la muestra.

Recientemente se han introducido las técnicas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de secuenciamiento genético; las que están siendo usadas con mas frecuencia para la caracterización de variantes de los aislamientos virales (16) (17).

SISTEMA DE INFORMACION

El sistema de información tiene por objeto, recolectar, almacenar y analizar datos sobre la situación de las encefalitis equinas que sirven de base para la detección precoz de las virosis, enfermedades y orientación de las medidas de prevención y control.

1. Definiciones

1. 1 Enfermedades en solípedos

Caso probable equino .

Todo caballo, mular o asnal que presente signos clínicos compatibles con encefalitis equinas: fiebre, depresión profunda, anorexia, somnolencia, tambaleo al caminar y no tiene historia de vacunación contra EEV u otra encefalitis equina.

Caso confirmado.

Incluye animales que presentan los signos clínicos descritos y se les ha detectado antígeno viral, anticuerpos tipo IgM en el suero o presentan un incremento del título mayor del doble de anticuerpos IgG en el suero en un período de 7 días.

Posible brote de EEV

Presencia de dos o más casos equinos en un predio o localidad cuyo inicio de síntomas entre uno y otro no es mayor de 3 a 5 días.

Foco: Predio con uno o más animales enfermos.

Epizootia: Se refiere a la manifestación de enfermedad en un grupo de casos dentro de una reunión geográfica, específica (29)

1.2 Enfermedad en humanos

Caso probable de EEV. Todo caso febril residente o procedente de áreas en donde se conozca de muertes de équidos o circulación del virus de EEV y que presente durante el curso de la enfermedad lo siguiente:

Personas de tres y mas años: Cefalea acompañada de cualquiera de los siguientes síntomas:.

- . Convulsiones o alteración del estado de conciencia, desorientación, somnolencia, letárgia, coma, hiperacusia, ó;

. Cualquiera de los signos o síntomas de dos de las siguientes categorías:

- i. Alteración osteomuscular: Mialgias, artralgias.
- ii. Gastrointestinales: Náuseas, vómito, anorexia, diarrea.
- iii. Generales: Escalofrío: fotofobia, postración, malestar.

Personas menores de tres años: Alteración del estado de conciencia o convulsiones.

Caso confirmado: Incluye personas que reúnen los signos clínicos compatibles con encefalitis, ya descritos, y cualquiera de los siguientes resultados de laboratorio:

- i. Aumento del título de anticuerpos IgG en un período de 7 días.
- ii. Aislamiento viral de la sangre, o líquido cerebroespinal.
- iii. Anticuerpos tipo IgM o antígenos detectados por pruebas serológicas. (12)

Nota: La presentación de la enfermedad de E.E.V. es explosiva y no permite hacer pruebas de laboratorio a todos los casos probables; por lo tanto una vez se documente la circulación del virus en una región, no es necesario confirmar a todos los casos por laboratorio.

2. Aspectos Organizativos:

Para la operación del sistema de información, los países deberán conformar los niveles de acuerdo a la propia conveniencia y estructura administrativa. Sin embargo, a continuación se describen las unidades mínimas recomendables para integrar al sistema y el rol que debe tener cada una de ellas:

2.1 Unidades de Información a nivel local:

Dentro de las áreas definidas como de riesgo deberán ser centros de salud o de agricultura de acuerdo a la cobertura geográfica de los sectores.

Funciones:

Según su competencia técnica, se recomienda:

- . Motivar la notificación de casos de encefalitis entre la comunidad.
- . Notificar a los niveles subsiguientes (regional y central) en forma inmediata, por el medio más rápido, cualquier caso de enfermedad compatible con encefalitis ya sea en humanos o en solípedos.
- . Atender notificaciones de enfermedad compatible con las encefalitis equinas y hacer la investigación epidemiológica correspondiente, colectando muestras para remitirlas al laboratorio con la información pertinente

- . Mantener archivos sobre número y ubicación de predios, población equina por grupos de edad, tipos de explotación y coberturas vacunales.
- . Elaborar mapas divididos en cuadrantes con localización de las poblaciones equinas y concentraciones de animales (hipódromos, clubes, montas de ejército, etc.), ferias comerciales y de exposición, distribuidores de biológicos y detallar los flujos de movilización de animales indicando su destino, (predios, ferias, exposiciones, mataderos)
- . Informar al centro de salud para que se haga el seguimiento de casos humanos.
- . Mantener mapas epidemiológicos con localización de los focos enzoóticos y focos de enfermedad equina, según tipo de encefalitis: Este, Oeste, Venezolana y subtipo, si se tiene la información
- . Recomendar, de acuerdo a los procedimientos establecidos, las medidas de control necesarias.
- . Mantener índices y curvas endémicas como indicadores del comportamiento de la enfermedad utilizando el mes calendario como unidad temporal.
- . Desarrollar actividades de centinelización en focos enzoóticos durante las épocas del año que representen riesgo.
- . Mantener vigilancia sobre las poblaciones de los mosquitos vectores. (29)

.2 Unidades de información a nivel regional

Son responsables del manejo de la información producida a nivel local y pueden corresponder a una Dirección Departamental, Provincial o Estatal de Salud y/o Agricultura.

Funciones:

- . Mantener archivos de predios y población equina por categorías etáreas, tipo de explotación y coberturas vacunales en su respectiva región..
- . Mantener información actualizada sobre la situación de las encefalitis y actualizar, procesar y analizar la información sobre poblaciones y coberturas vacúnales por unidades locales.
- . Capacitar y asesorar a los funcionarios de las unidades locales y evaluar permanentemente el sistema.

- . Registrar las notificaciones de los niveles locales y suministrar la información a los otros niveles del sistema y a la unidad regional de salud o a quien la necesite.
- . Caracterizar los ecosistemas de la enfermedad y los diferentes factores y niveles de riesgo.
- . Liderar y participar en investigaciones ecológicas, epidemiológicas y de impacto económico.
- . Mantener información permanente de indicadores meteorológicos de la región. (29)

2.3 Unidad de información de diagnóstico

Es responsable del manejo de la información generada por la actividad diagnóstica. De acuerdo a la cobertura geográfica y capacidad técnica, pueden intervenir laboratorios de los servicios de salud y/o de agricultura.

Para efecto de poner en operación el diagnóstico, cada país deberá establecer los diferentes niveles de laboratorio del diagnóstico, según su tamaño territorial, vías de acceso y sus áreas de riesgo, teniendo presente además la infraestructura existente y capacidad técnica de las unidades de laboratorio

Países como Brasil, Colombia, México y Venezuela que tienen diversas áreas endémicas deberían tener además de su laboratorio central de referencia otros regionales donde al menos se realicen diagnósticos serológicos que apoyen y agilice las acciones de campo.

Funciones:

- . Mantener estandarizadas las pruebas diagnósticas que se realicen.
- . Recibir, registrar y analizar las muestras enviadas por las unidades de campo.
- . Informar inmediatamente los resultados de los diagnósticos obtenidos, a los diferentes niveles del sistema (local, regional y central) y notificar todos aquellos casos en que actúe directamente a la unidad local indicando el nombre del predio atendido y su ubicación.
- . Mantener mapas epidemiológicos de los predios afectados según tipo de diagnóstico.
- . Mantener registro de muestras recibidas y de resultados, así como de muestras enviadas para diagnóstico de referencia.

2.4 Unidad de información a nivel central

Debe ser responsable del archivo, consolidación, análisis y uso de la información generada en los otros niveles. En general debe mantener funciones normativas y de orientación técnica.

Dada la necesidad de una integración entre los sectores de salud y agricultura, es recomendable tener una comisión nacional intersectorial con atribuciones de coordinación, programación de actividades y evaluación.

Funciones:

- . Marcar pautas, supervisar y evaluar la operación del sistema.
- . Suministrar a los distintos niveles del sistema, usuarios y beneficiarios, informes periódicos, completos y oportunos sobre la situación de las encefalitis y el desarrollo de actividades de los programas de control.
- . Capacitar y asesorar a los diferentes niveles del sistema.
- . Mantener un banco de datos con información por Departamentos o Estados, sobre las distribución de los predios, concentraciones de animales (hipódromos, clubes, montas del ejército), ferias comerciales y de exposición, poblaciones por especie, categoría etérea, tipo de explotación y cobarturas vacúnales, laboratorios productores y almacenes expendedores de vacuna, así como de registros de personal, grado de capacitación del mismo y proyectos de investigación.
- . Mantener la coordinación intersectorial con salud o viceversa para la vigilancia de las encefalitis (29).

3. Operación del sistema

En esta sección se contempla la periodicidad tipo de los informes y el flujo de la información.

3.1 Notificación inmediata de encefalitis en equinos

Le corresponde al nivel local (sector de agricultura) informar inmediatamente y por la vía más rápida al nivel regional, todo evento sobre la presencia inusual o esporádica de casos con signos encefálicos en la especies equina, mular o asnal.

La información debe incluir: Ubicación de los predios afectados, por cuadrante; fecha de inicio de la enfermedad; especie animal comprometida; número de animales enfermos y muertos; tipo de muestra y fecha de envío.

Es importante confirmar con los servicios de salud la existencia o ausencia de casos febriles humanos sospechosos de EEV. Ejemplo de telegrama o fax se incluye en el Anexo No. 1

Toda notificación debe generar un estudio epizootiológico respecto a las características del huésped, agente y medio ambiente que explique el origen y propagación de la enfermedad si la hubo y en particular coleccionar muestras para la confirmación del diagnóstico por el laboratorio (Anexo No. 2).

El laboratorio de diagnóstico debe acusar recibo inmediato de las muestras a la unidad local remitente e informar de igual manera los resultados de laboratorio a los otros niveles del sistema (local, regional y central), utilizando el medio disponible más rápido. La información debe incluir: Fecha de recibo de muestras y de envío de resultados, semana epidemiológica, nombre y ubicación geográfica del predio afectado, número y tipo de muestras enviadas, el resultado de laboratorio y/o necesidad de envío de nuevas muestras. Anexo No. 3

3.2 Notificación de alerta de brotes (Predictores)

Le corresponde al nivel local vigilar los indicadores predictores de brotes de encefalitis, teniendo presente lo siguiente

- . Población equina indemne, no vacunada superior al 60%
- . Abundante población de vectores adultos en las áreas de su responsabilidad geográfica.
- . Epoca de lluvias, temperaturas entre los 25 a 30° C (favorable para la incubación y reproducción de los vectores)

Localidades ubicadas en las áreas de riesgo señaladas por el nivel central deberán notificar mensualmente la situación de otros indicadores como se indica en el Anexo No. 4.

3.3 Notificación semanal de presencia o ausencia de encefalitis

Unidad local: Deben informar al nivel regional los días viernes, la ausencia o presencia de enfermedad (notificación) a las unidades central, regional y de diagnóstico incluyendo: Fecha, receptor, semana epidemiológica, nombre predio y cuadrante (cuando hay notificación). La notificación semanal incluirá información sobre la investigación de focos. (Anexo No. 5)

Unidad de diagnóstico: El laboratorio de diagnóstico debe comunicar al nivel central los días viernes o inmediatamente en el caso de que la encefalitis identificada sea considerada exótica para una determinada región, los diagnósticos realizados durante la semana incluyendo: Fecha, receptor, semana epidemiológica, nombre del predio, cuadrante y resultados de envío de nuevas muestras. Anexo No. 3

Unidad Regional: El nivel regional con base en las notificaciones (inmediata o semanal) recibidas de las unidades locales, debe comunicar los días martes por el medio más rápido,

al nivel central la información concerniente a la semana anterior, incluyendo: Fecha, unidad regional remitente, semana epidemiológica, nombre del predio afectado y ubicación por cuadrante y nombre de unidades locales no informantes (control del sistema).

Todos los niveles del sistema deberán informar la ausencia de notificaciones o resultados durante la semana epidemiológica correspondiente, en caso que así ocurriera.

3.4 Información de operaciones de emergencia durante epidemias

Con el propósito de agilizar la información y hacer seguimiento local a los brotes, se requiere un sistema de emergencia que puede estar constituida de la siguiente manera:

- a. Informe diario de enfermedades de équidos. Anexo No. 6
- b. Notificación de muertes humanas compatibles con EEV. Anexo No. 7
- c. Registro diario de vacunación en equinos (Anexo No. 8)
- d. Registro de operaciones de control de la EEV. (Anexo No. 9)

4. Salidas de Información del Sistema

4. 1 Boletín epidemiológico semanal

La unidad central debe producir un boletín epidemiológico semanal, con base en las notificaciones semanales del nivel regional y distribuirlos a los otros niveles del sistema y a los usuarios del mismo, incluyendo: Semana epidemiológica, predios afectados y frecuencia acumulada por cuadrante, Municipio y Departamento o Estado, diagnósticos confirmados, mapa señalando las notificaciones, comparación con lo sucedido en el año anterior (semana y mes acumulado) y alertas sobre el comportamiento de la enfermedad. (Anexo No. 5)

Estos boletines, también deben ser elaborados por el nivel regional, con la misma metodología y distribuidos a los diferentes usuarios del servicio.

4. 2 Boletín Epidemiológico Anual

La Unidad Central deberá elaborar un boletín anual que incluirá:

- . Predios afectados por: Departamento, municipio, cuadrante tipo de explotación, población a riesgo numero de enfermos y muertos, tasas de incidencia por especie, categorías por edad y tipos de diagnóstico.
- . Análisis de situaciones de epizootías y epidemias
- . Comparación y análisis de ocurrencia de enfermedad contra situaciones esperada en tiempo y espacio.
- . Cobertura vacunal por departamento y municipio.
- . Además deberá incluir, aspectos que permitan evaluar la oportunidad de la notificación, de la atención al predio, de la toma y envío de muestras, del estado inmunitario de la población equina a través de encuestas seroepidemiológicas y de la tendencia de la enfermedad.

4. 3 Informes a Entidades Internacionales

De acuerdo a los compromisos y convenios establecidos que tenga cada país, la unidad central del sistema remitirá información según el caso:

- a. Informe semanal de presencia de encefalitis al Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA) de la Organización Panamericana de la Salud. Se elaborará en los primeros días de la semana correspondiente, con base a notificaciones de las unidades regionales. El informe debe contener cuadrantes afectados, población equina dentro del área afectada, número de animales enfermos y muertos y semana epidemiológica informada. Informar si hay personas enfermas o no y para el caso que haya informar el numero. La remisión será por telex a PANAFTOSA en Río de Janeiro, o a través de las representaciones de la OPS/OMS en los países del área.
- b. Informe mensual a la OIE Se elaborará pasados veinte (20) días al mes calendario para informar utilizando en los formatos elaborados por la OIE para tal efecto.
- c. Informar a países vecinos y a otros con los que se tengan convenios sanitarios, de acuerdo a la periodicidad y el tipo de información convenida. Se debe utilizar fax.

5. Flujo de la información

El diagrama de flujo se presenta en el Anexo No. 10. La correcta operación del sistema de información dependerá de la claridad de los flujos. Para el caso de las encefalitis equinas la información circulará en tres bloques: que deben adquirir una estrecha interrelación: el sector pecuario, el sector salud y el bloque internacional, comprendido por OPS/PANAFTOSA, la OIE y los países vecinos o con convenios sanitarios.

Considerando que en el bloque pecuario se obtendrá la primera información sobre la actividad viral en los caballos, mulares y asnales predecedora de la enfermedad en la población humana, la información circulará a los niveles correspondientes de este bloque, pero estableciendo la articulación con el sector salud.

La integración del flujo del sector pecuario al sector salud será la notificación inmediata de cualquier actividad en animales. La unidad local del sector salud, hará la correspondiente investigación de casos febriles humanos y tomará las muestras para la confirmación del diagnóstico de laboratorio.

El tercer bloque del circuito de información incluye a los organismos internacionales (OPS/OMS y OIE) y los países con convenio que serán informados a través de las unidades centrales del sector pecuario y del sector salud como corresponde. En casos de ocurrencias de epizootias y epidemias, es conveniente establecer solo una unidad de información de los niveles centrales que reúna los datos de los dos sectores.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Acha, P.N. y Szyfres, B: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud, 2º (ed), Pub. Científica No. 503, 1986.
2. Avila - Rovira, J.M: Situación actual de la encefalitis equina venezolana y otros arbovirus en Venezuela. Gac. Med. Caracas 1986 104(1): 14-25.
3. Calatrara, A; Infante, G. Análisis de situación del sistema de vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas en los Distritos Mara y Paez del Estado de Zulia. U. de Zulia, Div. De Post-Grado. Maracaibo, 1987.
4. CDC. Arbovirus surveillance summary No. 2, 1993.
5. CDC: Climatic predictors of arbovirus activity. Arbovirus Surveillance Summary. 1993, No. 2.
6. Center for Diseases Control and Prevention (CDC). Guidelines for arbovirus surveillance in the United States. U.S. Department of Health and Human Services. Fort Collins, Colorado, U.S.A, 1993
7. Francy, B.; Wagner, B.A: Equine Encephalomyelitis in the United States, 1980 - 1990. Animal Health Inv., USDA-APHIS, 1992.
8. Iversson, L. B.; Silva, M. S.; Travassos da Rosa, A. P. A; Barros, R. S.: Circulation of Eastern Equine Encephalitis, Western Equine Encephalitis, Ilhéus, Maguari and Tacaiuma viruses in equines of the Brazilian pantanal, South America. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 35 (4);355-359, 1993.
9. Lord, R. D.; McLean, R.G: Encephalitis surveillance Dominican Republic 1988. A report Pan American Health Organization. Washington, DC 1988.
10. Ludwig, W. D.; Newhouse, V.F. Epidemic Venezuelan Equine Encephalitis in North America: A summary of virus - vector - host relation. Am. J. of Epidemiology, Vol. 101, No. 1. 1975.
11. Ludwig, R: Diagnostic approaches for Venezuelan Equine Encephalitis (VEE). Workshop on Epidemiological Surveillance of VEE. Chiapas, México, 1996.
12. Ministerio de Salud de Colombia: Vigilancia epidemiológica intensificada de encefalitis equina venezolana. Bogotá, Colombia 1995.
13. Monath, T. P.; Sabattini, M. S.; Pauli, R.; Daffner, J. F.; Mitchell, C. J.; Bowen, G.S.; Cropp, C.B. Arbovirus investigation in Argentina 1977-1980. IV Serologic surveys and sentinel equine programs. Ames J. Trop. Med/ Hyg. 34:966-975, 1985.
14. Navarro López R; Flores Hernández, A.O.; Villaroel, C.; Méndez Ochoa, M.A.; Fraire Chacón, M.: Estudio epidemiológico para determinar la presencia de virus endémico encefalitis equina venezolana (EEV) en seis zonas bióticas del Estado de Chiapas, México. Seminario Taller sobre Vigilancia epidemiológica de la encefalitis equina venezolana. Chiapas, México 1996.

15. Roselli, D; Piñeros, M; Restrepo, G.; Suazo, L. J; Vargas, F. Manifestaciones neurológicas de la encefalitis equina venezolana. Guajira, 1995. Acta Neurológica Colombiana, 1995; Vol 11 (4) 268:271.
16. Rico Heese, R. Evolución Molecular y Epidemiológica del virus de encefalitis equina venezolana. Seminario - Taller sobre la Vigilancia epidemiológica de la encefalitis equina venezolana. Chiapas, México, 1996.
17. Rico Heese, R.; Waver, S.C.; De Siger, J; Medina, G; Salas, R. A.; Emergence of a new epidemic epizootic Venezuelan equine encephalitis virus in South America, Proc. Natl. Acad. Sci. 92:5278-5281, 1995.
18. Ruíz, A. Situation of equine encephalitis in the Americas, 1989-1993. VIII Inter-America Meeting, at the Ministerial level on Animal Health (RIMS VIII), Washington, DC 27-29 April, 1993.
19. Ruíz, A. Outbreak of Venezuelan Equine Encephalitis (1995). American Society for Tropical Medicine and Hygiene Meeting. San Antonio, Texas, USA, November 16-19, 1995
20. Ruíz, A. Bases para la instrumentación de un sistema de información y vigilancia epidemiológica de la encefalitis equina venezolana en la Región de la Américas. Seminario - Taller sobre vigilancia epidemiológica de las encefalitis equina venezolana, Chiapas, México, 1996.
21. Ruíz, A.; Ludwig, R.; Smith, T: El brote de Encefalitis Equina Venezolana en la Guajira, Colombia. OPS Informe de consultoría. Washington, DC 1995.
22. San Martín, C. Encefalitis equinas. Informe de la asesoría a las autoridades de salud del Perú. OPS. Venezuela 1981.
23. San Martin, C. Epidemiological experiences in over-development sub-countries. Amer. J. of Trop. Med and Hyg., 22 (3):291-295. 1973
24. Scott, T. W.; Weaver S. C.: Eastern equine encephalomyelitis virus: Epidemiology and evolution of mosquito transmission. Andv. Virus. Res. 37:277-328, 1989.
25. Seller, R. F.; Mearouf, A. R. Trajectory analysis of winds and eastern equine encephalitis in USA, 1980-85. Epidemiol. Inf. 104:329-343, 1990
26. Vasconcelos, P. F. da Costa; Travassos da Rossa, J. F; Travassos da Rosa, A. P.; Degallier, N.; Pinheiro, F; Sa Filho, G.C. Epidemiología da encephalitis por arbovirus na Amazonia Brasileira. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 33 (6): 465-476. 1991
27. Yuill, T.M.; Homan, J. E.: Venezuelan Equine Encephalitis in Central America. Pre-proposal. University of Wisconsin-Madison School of Veterinary Medicine. December 21, 1990.
28. White, P.S.; Pickett, S.T.A.: Natural disturbance and patch dynamic: An introduction. In: Pickett, S.T.A. and P.S. White (eds). The ecology of natural disturbance and patch dynamics. Academic Press. Inc., New York. 1985.
29. Zuniga, I. Documento base para un sistema de información y vigilancia epidemiológica de las encefalitis equinas para la región de las Américas. OPS, Bogotá, Colombia 1991.

ANEXO NO. 1

**NOTIFICACION DE CASOS DE SINDROMES COMPATIBLES CON ENCEFALITIS
EQUINA VENEZOLANA (EEV)**

(Modelo de telegrama, fax)

Con fecha _____ (día/mes/año) estamos notificando _____ casos
de síndrome compatible con EEV en equinos en la propiedad
_____ de la localidad de _____, Municipio:
_____ Departamento/Estado _____, coordenadas
_____.

El día de la visita hay _____ predios implicados y _____
animales enfermos, _____ muertos.

Con los servicios de salud se han constatado _____ casos febriles
humanos sospechosos de EEV.

Muestras de _____ (suero, sangre, cerebro) fueron remitidas al
laboratorio, el día _____. Sigue reporte de casos

**INVESTIGACION DE FOCOS DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
(UNO POR PREDIO)**

1. Unidad local: _____ Fecha de elaboración: _____

2. Identificación y localización:

Nombre predio: _____

Nombre propietario _____

Departamento o Estado: _____

Municipio: _____

Coordenadas: _____

Especie: Equina: _____ Mular: _____ Asnal: _____

4. Informante: _____ Propietario: _____ Vigilancia: _____ Terceros: :

5. Cronología:

Fecha	Día	Mes	Año
Inicio Foco			
Notificación			
Visita M. V.			

6. Predios vecinos afectados: SI: NO: Cuantos: _____

Población susceptible en el Area: _____

7. Sintomatología:

8. Lesiones en la necropsia: _____

... /

. 2/

9. Muestras para laboratorio:

Tipo de muestras: _____ Fecha envío: _____

Se deben tomar dos (2) muestras de suero con quince (15) días de intervalo entre cada una.

10. Estado de vacunación contra la enfermedad antes del inicio

Día: _____ Mes: _____ Año: _____

11. Población total enfermos y muertos

Edad (años)	TOTAL		ENFERMOS		Muertos *	
	Vacunados	Sin Vacunar	Vacunados	Sin vacunar	Vacunados	Sin vacunar
Equinos						
< 1						
1-3						
> 3						
Mulares						
< 1						
1-3						
> 3						
Asnales						
< 1						
1-3						

> 3						
-----	--	--	--	--	--	--

- Los muertos se consideran que enfermaron y el número debe incluirse entre los enfermos

...3 /

12. Movilización de equidos

Hubo ingreso de equidos en los últimos 30 días antes del inicio?

SI: _____ NO _____

Hubo egreso de equidos en el período comprendido entre 30 días antes de la enfermedad y en el momento actual?

SI: _____ NO _____

13. Medidas tomadas:

Cuarentena: _____

Vacunación: _____

Control de vectores: _____

Otras: _____

14. Observaciones:

Nombre M. V.: _____

Firma: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

ANEXO NO. 3

**SISTEMA DE INFORMACION Y VIGILANCIA DE LA ENCEFALITIS EQUINA
VENEZOLANA**

INFORME DE LABORATORIO

Semana No. ____

Laboratorio: _____

Localidad: _____

Municipio

Especie	Procedencia	Tipo de muestra	No. muestras recibidas	No. positivas	Prueba
Humana					
Equinas					
Roedores					
Mosquitos					
Otras					

Muestras remitidas a laboratorio de referencia: _____

Fecha de remisión _____

Jefe de laboratorio: _____

Fecha del informe: _____

ANEXO NO. 4

**NOTIFICACION DE ALERTA DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA (EEV)
MODELO INFORME MENSUAL**

MES _____

UNIDAD DE VIGILANCIA LOCAL _____

MUNICIPIO: _____

DEPARTAMENTO O ESTADO _____

FECHA ELABORACION _____

INDICADORES	AÑO ANTERIO	PRESENTE AÑO
TEMPERATURA PROMEDIO (°C)		
PRECIPITACION PLUVIAL (mm)		
DENSIDAD PUPAS DE MOSQUITOS		
CAPTURA MOSQUITOS ADULTOS (Taxonomía)		
PROPORCION MACHOS Y HEMBRAS		

**SISTEMA DE INFORMACION Y VIGILANCIA DE ENCEFALITIS EQUINA
VENEZOLANA**

INFORME SEMANAL

Semana No. _____

Unidad de Vigilancia Local: _____

Fecha de elaboración: _____

No. Focos notificados: _____

No. Focos investigados: _____

Fecha inicio: _____

Fecha terminación: _____

Población en riesgo: Humana _____

Equina: _____

Animales

Enfermos

Muertos*

Equinos

Mulares

Asnales

- Los animales muertos deberán considerarse como enfermos y deben adicionarse

Personas Enfermas o muertas (por edad)

Grupo edad

Enfermas

Muertas

0 - 5

6-15

16-50

51-60

> 61

Diagnóstico	Humano ()	Equinos	()
Tipo diagnóstico		Clinico ()	_____
		Necropsia ()	_____
		Serología ()	_____
		Virología ()	_____

Fecha confirmación de laboratorio: _____

Medidas de control

Cuarentena: _____

Vacunación: _____

Control de vectores _____

Otras: _____

Observaciones:

Nombre informante: _____ Fecha: _____

Domicilio: _____ Teléfono: _____

**INFORMACION DE EMERGENCIA DURANTE EPIDEMIAS
- INFORME DIARIO DE ENFERMEDAD DE EQUIDOS -**

El Grupo de Investigación de Focos debe responder a cualquier rumor .

Debe informarse diariamente a mas tardar a las 11:00AM de este evento a UNIDAD DE SALUD.

Definición de muerte de equidos probablemente asociada a EEV: que los animales presenten o hayan presentado signos de enfermedad como estar tristes, dar vueltas, somnolencia, ceguera, tambaleo al caminar, o que ocurran varias muertes. Se excluyen muertes no naturales, excepto que lo hayan matado por sospecha de EEV.

Localidad: _____
 Municipio que informa: _____
 Departamento o Estado _____
 Fecha del informe: _____
 Persona a contactar _____
 Domicilio: _____ Teléfono: _____

Especie Animal	Población en el predio o ranchería	Enfermos	Fecha (1)	Muertos	Fecha (2)
Caballos					
Mulas					
Asnos					
Otros					
TOTAL					

Fecha en que aparecieron los primeros signos: _____

Fecha en que murieron _____

INFORMACION DE EMERGENCIA DURANTE EPIDEMIAS

NOTIFICACION DE MUERTE COMPATIBLE CON EEV

(Uno por individuo)

DEFINICION: Caso probable de EEV con convulsión y/o trastorno de la conciencia.

NOMBRE: _____

EDAD: _____ Años () Meses () Días ()

GENERO: Femenino () Masculino ()

LOCALIDAD: _____ (Ranchería/Vereda)

MUNICIPIO: _____ Departamento/Estado:

FECHA DE INICIO FIEBRE: Día _____ Mes _____ Año

FECHA DE INICIO TRASTORNOS NEUROLOGICOS:
Día _____ Mes _____ Año

FECHA DE DEFUNCION: Día _____ Mes _____ Año

LUGAR DE DEFUNCION: _____

PERSONA QUE INFORMA: _____

INSTITUCION: _____ **Teléfono:** _____

FECHA DE NOTIFICACION: Día _____ Mes _____ Año

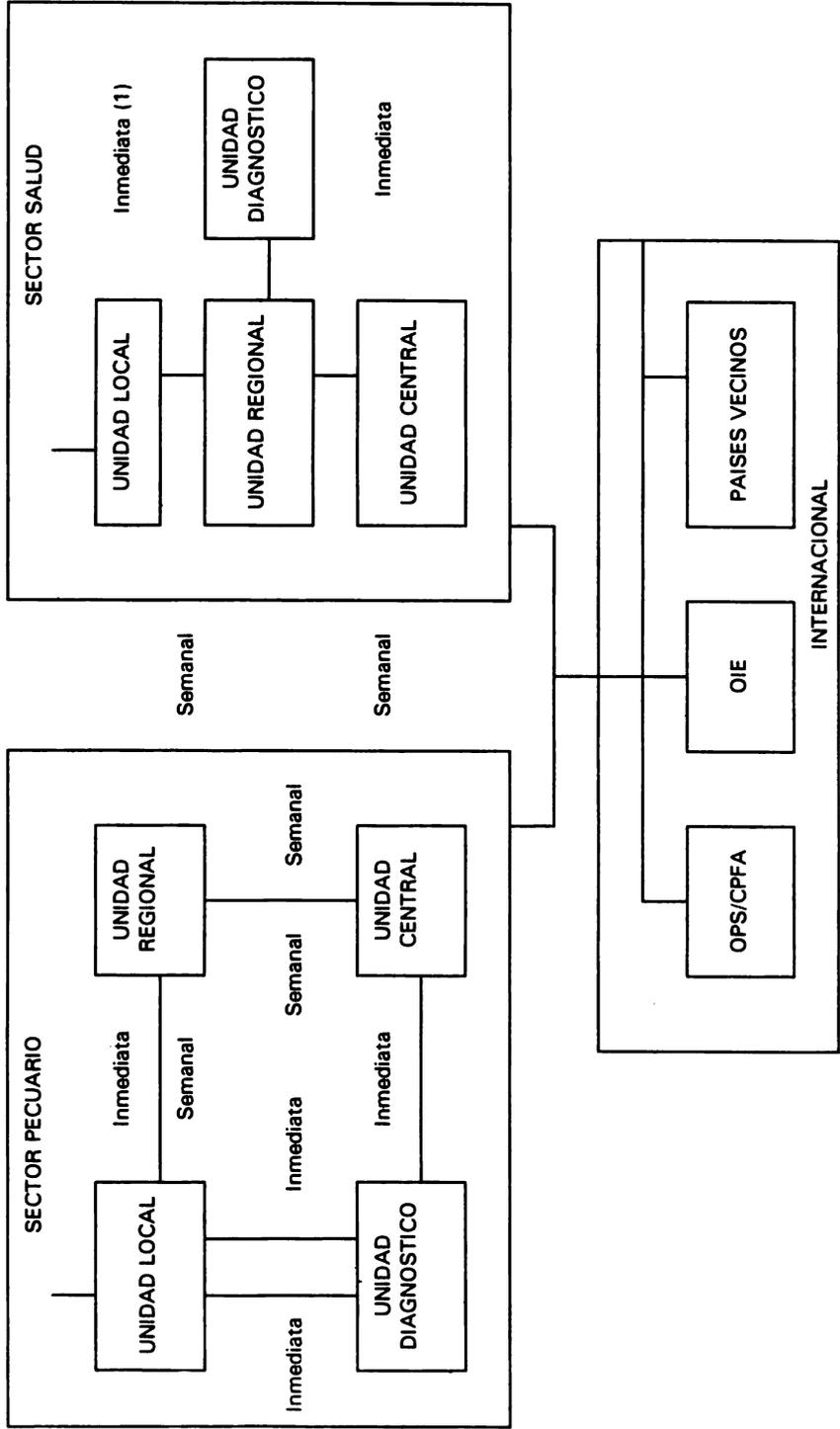
ANEXO NO. 9

**CONTROL DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA
REGISTRO DE OPERACIONES (SEMANAL)**

DEPARTAMENTO DE SALUD _____ Semana del Informe _____				
1. FUMIGACIONES (por Municipio) Tipo insecticida: _____ Concentración _____				
Localidad	Cobertura territorial (Km2)	No. viviendas área urbana	Población beneficiada (x1,000)	Cantidad insecticida usado (gl)
TOTAL				
2. TRATAMIENTO LARVICIDA Tipo de producto: _____ Concentración _____				
Localidades tratadas	Cobertura territorial (Km2)	Población beneficiada	No. ciclos realizados	Cantidad abate usado (Kg)
TOTAL				
3. VACUNACION EQUIDOS (por Municipio)				
Localidades	Población total equidos	No. vacunados	Cobertura vacunación (%)	Cobertura territorial (Km2)

4. VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA					
No. Municipios	No. Municipios afectados	Población expuesta		No. investigación Epidemiológica	No. Areas nuevas identificadas
		Humana	Equidos		
TOTAL					
5. ACTIVIDAD DE LABORATORIO					
Tipo de muestra		No. Muestras Recolectadas	No. muestras procesadas	Diagnóstico Confirmados	
Suero Humano					
Suero Equino					
Hisopado faringeo					
Mosquitos					
Tejidos animales					
TOTAL					

MODELO DE DIAGRAMA DE FLUJOS DE INFORMACION SOBRE ENCEFALITIS EQUINA



(1) En caso de confirmación diagnóstica en humanos



inifap



Diseño de Portada

**Esthela Núñez Rodríguez
Mario Castañeda Salas**

La impresión de este libro fue financiada en forma mancomunada por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) y por la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

**Consta de 500 ejemplares
Abril de 1999**

Comunicación Gráfica y Representaciones PJ, S.A. de C.V.



