

Situación actual de la encefalitis equina venezolana y otras arbovirosis en Venezuela

Dr. José Miguel Avilán Rovira

El término arbovirosis comprende el conjunto de enfermedades producidas por los virus transmitidos por artrópodos. Muchos arbovirus han sido identificados capaces de producir infecciones y enfermedades en el hombre. Los más importantes son: fiebre amarilla, el dengue (formas clásica y hemorrágica) y las “encefalitis” (San Luis, Oriental, Occidental y Venezolana).

Sin contar las formas asintomáticas, diagnosticadas sólo por métodos de laboratorio, en general se pueden distinguir dos síndromes:

1) Sistémico (signos y síntomas generalizados): fiebre, malestar general, cefalea (formas sistémicas de las “encefalitis”, fiebre de Mayaro, Oriboca, Guaroa, Oropuche, etc.). A este cuadro clínico puede agregarse una erupción (dengue clásico) y signos hemorrágicos (dengue hemorrágico).

2) Localizado (enfermedad febril aguda con signos específicos de los órganos afectados): signos de encefalitis en las formas localizadas de las encefalitis de San Luis, del oeste, del este, venezolana, Ilheus (somnia, convulsiones, fenómenos paráliticos o paréticos, coma); signos de hepatitis, nefritis y toxemia en fiebre amarilla (hematemesis, melena, albuminuria, ictericia).

Dentro del grupo de las “encefalitis”, las más importantes son la encefalitis equina del oeste (EEO), la encefalitis del este (EEE) y la encefalitis equina venezolana (EEV). Cada una tiene un ciclo natural o silvestre que involucra diferentes vertebrados — que actúan como reservorios del virus— y diversos mosquitos vectores. El hombre se infecta tangencialmente.

Por razones de espacio y por su importancia actual, en esta descripción se hará énfasis en la

situación de la EEV.

En cuanto a la fiebre amarilla, desde 1941 se han registrado en el país 197 defunciones, ocurriendo las últimas conocidas, 3 en 1979 y 3 en 1980.

De dengue, entre 1990 y 1995 se han registrado 60 000 casos con 150 defunciones por la forma hemorrágica. La proporción de formas hemorrágicas oscila entre un 20 a un 30%.

Breve descripción histórica. Se ha especulado si la EEV afectaría los caballos durante la guerra de la independencia. Hasta ahora no hay registros que lo evidencien. Sin embargo, en el libro “La vida en los llanos de Venezuela”, escrito por el hijo del General José Antonio Páez, en el capítulo “Caballos salvajes” se hace referencia a un episodio, que por su carácter explosivo, podría ser un brote de EEV. Este evento se ubicaría alrededor de 1825 (1).

Las primeras publicaciones sobre brotes de EEV en animales son las de Tabusso (1931-32) y Preston (1933) en el Perú (2), la de Albornoz (1935) en Colombia (3) y la de Kubes (1936) en Venezuela (4). En ellas se refiere que la ocurrencia de la enfermedad se remonta a 1925 en el Perú (2) y a 1930 en nuestro país (4). Sin embargo, es posible que la enfermedad haya ocurrido con anterioridad en Venezuela (5).

La primera epizootia descrita por Kubes, entre 1936 y 1938, avanzó desde La Guajira hacia el este del país (6), pasando a las islas de Aruba y Trinidad en el brote de 1943 (7).

El virus fue aislado por Kubes y Ríos, en el Instituto de Investigaciones Veterinarias, entonces en Caracas, del cerebro de un asno del Fundo San Jacinto, Estado Aragua, en 1938. Este virus no pudo neutralizarse con los sueros de la EEO y la EEE, por lo cual se le consideró distinto y se le bautizó como “venezolano” (8). Se inoculó un cobayo y se envió a la Fundación Rockefeller, en Nueva York, donde Beck y Wyckoff, confirmaron el hallazgo. Lo

publicaron ese mismo año en la revista Science y por eso durante mucho tiempo fueron considerados como los descubridores del nuevo virus (9). Fue posteriormente que se reconocieron a Kubes y Ríos como los primeros que lo aislaron e identificaron.

La enfermedad en el hombre se sospechó desde la ocurrencia de las primeras epizootias descritas (7). En Venezuela, después de los casos de encefalitis humana en trabajadores de laboratorio descritos en Brasil y Estados Unidos, al manipular la cepa V-1938, Kubes y Gallia (10), en el Instituto de Investigaciones Veterinarias de Caracas, demostraron la presencia de anticuerpos contra la EEV en sueros de 10 sujetos expuestos al virus en el laboratorio. El primer aislamiento de un caso humano contraído también en el laboratorio del mismo Instituto, lo realizaron Gallo y Lugo en 1947 (11). Negrette describió clínicamente los primeros casos humanos en Maracaibo en 1959 (12).

Sin embargo, el primer aislamiento de un caso ocurrido en la naturaleza, lo realizaron Sanmartín, Groot y Osorno, en El Espinal, Colombia, en 1952 (13). El primer aislamiento de casos humanos ocurridos en una epidemia en el país, fue en 1962, simultáneamente en los laboratorios del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y el Instituto Nacional de Higiene (5).

El brote de 1962. Este brote se inició en los distritos Páez y Mara y el municipio Miranda, situados al norte del Estado Zulia. Los primeros enfermos consultaron en Paraguaipoa y Sinamaica, al noroeste (NO) del Golfo de Maracaibo, el 29 de octubre y no fue sino hasta el 18 del mes siguiente que se atendieron los primeros pacientes procedentes de Punta de Palmas, al sureste (SE) del Golfo, lo cual demuestra que la onda epidémica avanzó del NO al SE. El brote cesó después de terminar el período de lluvias, en diciembre de dicho año.

El Distrito Páez se caracteriza por ser una zona semidesértica, de vegetación xerófila, donde abundan los cujíes, las tunas y los cardones, constituye la Guajira venezolana poblada por indígenas de la etnia Wayú, los cuales se afectaron por la epidemia en una alta proporción. En la región existen numerosos asnos en estado salvaje que los nativos domestican para usarlos como transporte. En total se registraron 6 762 casos con 43 muertes (ver Cuadro 1).

Con los datos pluviométricos suministrados por la División de Hidrología del Ministerio de Obras Públicas de la época y recogidos en las estaciones

Cuadro 1

Encefalitis equina venezolana. Venezuela 1962-1973. Distribución de la morbilidad y mortalidad por años

Años	Total registrados		Letalidad %	Casos neurológicos	
	Casos	Muertes		Nº	%
1962	6 762	43	0,6	400	5,9
1963	9 787	59	0,6	318	3,2
1964	6 754	54	0,8	242	3,6
1965	15	2	13,3	-	-
1966	584	2	0,3	-	-
1967	53	-	-	-	-
1968	1 377	3	0,2	140	10,2
1969	3 527	21	0,6	160	4,5
1970	331	4	1,2	-	-
1971	6	1	16,7	-	-
1972	3	1	33,3	-	-
1973	1 155	3	0,3	58	5,0
Total	30 354	193	0,6	1 318	4,3

Fuente: Anuario de Epidemiología y Estad. Vit. MSAS, 1962-1973.

que funcionaban en el área epidémica, pudimos demostrar que en el año climático 1962-63, o sea el comprendido entre abril de 1962 y marzo de 1963, la precipitación pluvial fue superior a la mediana de los 5 años previos. En promedio, en las localidades afectadas, se registró una mediana de 488 mm de precipitación pluvial anual, que ascendió en el año climático del brote a 800 mm. Luego, para los meses del brote, la precipitación fue aún mayor, en especial, octubre y noviembre (5).

De las especies de mosquitos, de las cuales fue posible aislar el virus de la EEV (14), el *Aedes taeniorhynchus*, con la tasa más alta de positividad, prefiere como criaderos los pantanos salobres formados a lo largo de las costas al igual que el *Anopheles aquasalis*. Sin embargo, puede reproducirse también en los charcos de agua de lluvia, así como los producidos por desbordamientos de ríos y quebradas, que son los sitios escogidos por el *Psorophora confinis*, otra de las especies encontradas positivas al virus. Esta última especie no deposita sus huevos en la superficie del agua, sino en las tierras que al anegarse después por las lluvias, inundaciones o riegos, permiten la eclosión a los 4 ó 5 días de estar sumergidos (5).

Es posible por lo tanto concluir, que estas especies se multiplicaron en grandes cantidades dadas las

ENCEFALITIS EQUINA

condiciones ambientales existentes, facilitando su infección en los reservorios o los amplificadores del virus y la consecuente transmisión a la población humana y animal susceptible acumulada por la falta de circulación viral en gran escala durante los años de escasas lluvias.

La característica explosiva de las epidemias de EEV es posible porque hasta un solo asno o caballo virémico es capaz de infestar miles de mosquitos vectores en una sola noche (15). El nivel virémico varía entre 10^5 y 10^8 dosis letales medianas (LD_{50}) para el ratón, por cc., suficiente para infestar las especies comunes de los géneros *Psorophora*, *Aedes* y *Manzonia*. El período extrínseco de incubación (o sea el tiempo requerido desde su ingestión hasta alcanzar la capacidad de transmitirlo por picadura) es inversamente proporcional a la temperatura ambiente. A los $26,7^{\circ}\text{C}$ dicho período varía entre 8 y 12 días en las especies *Aedes* y *Manzonia*, tiempo que coincide con el que transcurre entre la primera y tercera comida. Como es sabido, las hembras deben alimentarse al terminar cada ciclo ovular, el cual dura aproximadamente 48 horas. Probablemente sea menor en las especies de corta vida como el *Psorophora confinis*. La temperatura media en el área epidémica alcanzó 28°C .

Experimentalmente se ha demostrado que los mosquitos vectores transmiten con gran eficiencia durante toda la vida: ésta puede ser de 1 a 2 semanas para los de vida corta hasta 2 o más meses en las especies de larga duración.

Antes del brote de 1962 sólo se disponía de cifras de referencia de casos en animales suministradas por el Ministerio de Agricultura y Cría. Con estos datos elaboramos la Figura 1, donde podemos observar que entre 1953 y 1961, se registraron entre 7 (1956) y 61 (1959) casos esporádicos en animales, para un total de 224 casos de encefalitis en caballos o asnos (5). Este número se incrementó a unos mil para 1964 (16). Estos datos sugieren que el virus epidémico puede perpetuarse entre los períodos epizooticos pasando de un animal a otro mediante vectores, produciendo casos poco numerosos en cualquiera de sus formas clínicas, entre ellas la forma febril, sin manifestaciones encefalíticas. Estas pueden pasar inadvertidas, pero producen suficiente viremia para infestar los vectores.

Las cifras de casos humanos en el mismo gráfico, corresponden a las notificaciones recibidas en la División de Epidemiología del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS), como "encefalitis

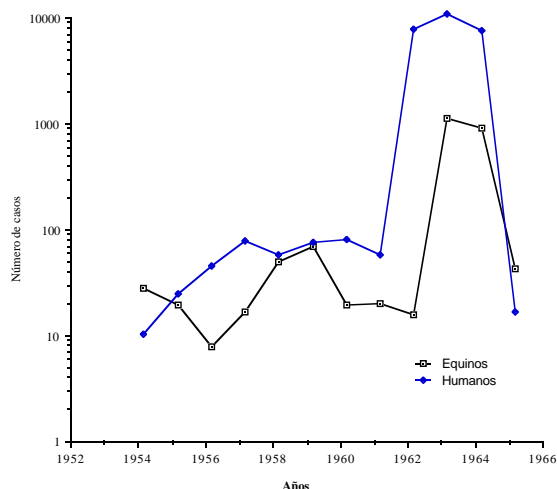


Figura 1. Casos de EEV en animales registrados por el MAC y de "encefalitis" en humanos, notificados a la División de Epidemiología, en Venezuela, durante los años 1954-1965

infecciosa" (Categoría 082 de la Clasificación Internacional de Enfermedades, VI y VII revisiones) hasta 1961. De 1962 en adelante corresponden a los casos diagnosticados como de EEV. La epizootia de los años 1962-64 coincidió con la epidemia, no sólo en el tiempo sino también en el espacio. Podemos hablar entonces de "epizoodemia".

Los brotes de 1963 a 1973. Hasta diciembre de 1962 la epizoodemia se limitó a la parte norte del Estado Zulia. Al reanudarse las lluvias el año siguiente, reapareció en la Villa del Rosario (27-05-63), al suroeste de Maracaibo, extendiéndose luego al sur del lago y al Estado Trujillo (22-06-63). En la primera semana de agosto se extendió a Portuguesa y Cojedes, en la segunda y tercera semanas a los Estados Yaracuy y Miranda, para alcanzar durante la cuarta semana a la costa de Anzoátegui y la parte occidental del Estado Sucre. En este Estado, la epizoodemia avanzó de occidente al oriente y los últimos casos ocurrieron en enero de 1965. Esta vez no se tuvo evidencia de que la enfermedad hubiera pasado a Trinidad, como ocurrió en 1943.

La epizoodemia se propagó a 15 entidades federales registrándose un total de 16 541 casos humanos y 113 muertes (0,7%) hasta 1964. La distribución por Estados y las fechas de ocurrencia las dimos en un trabajo anterior (16).

En 1966 y 1967 ocurrió el brote del Estado Bolívar, en Guasipati, El Callao, Tumeremo, El

Dorado y El Miamo. En 1968 y en 1969 se registró un nuevo brote al norte del Estado Zulia que se propagó a la costa oriental del Estado Falcón. Este brote descendió hasta el Estado Apure en 1970 (17).

Como se puede observar en el Cuadro 1, en total entre 1962 y 1973, se registraron 30 354 casos de EEV, con 193 defunciones y 1 318 casos neurológicos. Esto representa una tasa de letalidad de 0,6% y un 4,3% de casos con manifestaciones propiamente encefalíticas.

Estos brotes se conocieron en la División de Epidemiología del MSAS, la cual recibía información telegráfica semanal sobre enfermedades transmisibles de más de 500 servicios locales de salud pública distribuidos en todo el territorio nacional. Cuando el número de casos era mayor que el esperado (y a partir de 1962, cuando se sospechó EEV, sin importar el número de casos) los servicios locales notificaron por vía telefónica.

En estas situaciones un médico epidemiólogo fue enviado al lugar afectado para constatar la ocurrencia de los casos, confirmar el diagnóstico clínico, tomar muestras y ayudar a los médicos locales en las medidas preventivas y terapéuticas. Quien esto escribe realizó estas actividades durante todos los brotes ocurridos entre 1962 y 1973, a excepción de los ocurridos en el Estado Bolívar los años 1966 y 1967 y los registrados en la primera mitad de 1970.

De los casos fatales hospitalizados a los que se les practicó autopsia, se obtuvo trozos de cerebro y otros órganos para intentar aislamiento del virus o para estudios histológicos. Las muestras se procesaron en los Institutos de Higiene e Investigaciones Científicas, para aislamiento de virus y titulación de anticuerpos; los estudios histológicos se llevaron a cabo en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Caracas. Los resultados los describimos en un trabajo anterior (17). Al mismo tiempo se desarrollaron pautas para la recolección y toma de muestras, las cuales fueron publicadas en su oportunidad (18).

La ocurrencia de los brotes en el espacio y en el tiempo, demuestra que ninguna localidad fue atacada dos veces durante los años 1962 a 1967. Esto se explica porque la enfermedad avanzó a través de poblaciones susceptibles en condiciones ecológicas especiales. Como ocurre con otros arbovirus, su mantenimiento en una población de vertebrados depende de la disponibilidad de una proporción suficiente de hospedadores no inmunes. La transmisión continua del virus depende, en consecuencia,

de la tasa de reproducción de las especies que lo hospedan.

Cuando son seres humanos o équidos los infestados, se conoce clínicamente el paso del virus por la morbilidad y mortalidad que produce. Cuando por modificaciones ecológicas aumenta el número de vectores que aseguran una tasa elevada de infectividad, ante una población no inmune de équidos y humanos (que tienen una tasa de reproducción lenta en relación a las necesidades virales) la infección se tiene que mover de un lugar a otro, como ocurre también con la fiebre amarilla.

Se explica así, teóricamente, lo observado en las distintas regiones del país desde 1962, es decir, que la onda epidémica avanzaba de un lugar a otro, que el brote se detenía durante el período de sequía y que reaparecía con las lluvias, por lo regular, en las inmediaciones donde se había detenido previamente.

Los brotes de 1968 en adelante, en los mismos lugares afectados con anterioridad (Zulia, Falcón), se explican por la acumulación de susceptibles desde 1962, como demostraremos más adelante con las tasas específicas por edad.

Validación del número de casos. Dadas las limitaciones de procesamiento y la extensión de los brotes, la toma de muestras de los pacientes para la confirmación mediante el laboratorio tuvo como finalidad determinar la causa del brote y no la de comprobar la impresión clínica en pacientes individuales.

En otras palabras, no todos los casos y muertes enumerados fueron confirmados por el laboratorio. Sin embargo, todos ellos ocurrieron en un tiempo y espacio delimitados, donde simultáneamente se registraron casos evidentes en équidos y en la mayoría de esas localidades se confirmó el brote por aislamiento del virus o titulación de anticuerpos específicos.

Con el fin de estimar el valor relativo del número de casos registrados como EEV, describimos el procedimiento que ideamos para justificar el número de casos atribuidos a la enfermedad en el brote al norte del Estado Zulia a fines de 1962.

A fin de simplificar y uniformar la recolección de los datos y características de los consultantes atendidos durante el brote, se adoptó una sencilla clasificación clínica de los pacientes, elaborada en base a la sintomatología predominante observada en los enfermos atendidos en los primeros días.

De acuerdo a los criterios adoptados para la

ENCEFALITIS EQUINA

clasificación de los consultantes, se consideraron cuatro grupos. El grupo 1 (sistémico) reunió a todos aquellos enfermos que presentaron tres o más de los siguientes signos o síntomas: fiebre alta con o sin escalofríos, cefalea intensa, congestión escleroconjuntival, hiperemia facial, faringoamigdalitis con o sin adenopatías cervicales, náuseas o vómitos con o sin diarrea.

El grupo 2 (localizado o neurológico) comprendió a los pacientes con algunos de los signos y síntomas anteriores y manifestaciones neurológicas como convulsiones, nistagmus, signos meníngeos, somnolencia, excitabilidad y delirio. El grupo 3 estuvo representado por los casos dudosos, muy benignos e indiferenciables de otro cuadro febril, con menos de tres signos o síntomas del grupo 1. Estos enfermos no fueron incluidos en la casuística. El grupo 4 comprendió a toda otra enfermedad claramente definida y diferente a las formas clínicas de la EEV (5).

Debido a la imposibilidad de relacionar cuantitativamente las diferentes proporciones por grupos con cifras anteriores, por ser éstas inexistentes, se comparó el número de consultantes por enfermedades comunes (grupo 4) durante el brote, con el esperado

calculado a base de las cifras conocidas de pacientes de primera consulta en los años anteriores registrados en los servicios locales del área epidémica.

El promedio mensual de consultantes de primera visita se calculó con los datos de primeros consultantes de los informes mensuales del último cuatrimestre de los años 1959 al 61 (por ocurrir el brote en el último cuatrimestre de 1962). Con este dato se calculó para la localidad sede del servicio local de salud, el “máximo habitual de primeros consultantes esperado” (promedio mensual \pm 2,5 desviaciones estándar).

Las cifras de los consultantes de primera vez atendidos durante el brote epidémico en las distintas localidades afectadas, se ajustaron a un mes (30 días), a fin de hacerlas comparables a los promedios mensuales de consultantes esperados.

Se llamó “mínimo epidémico” a la diferencia entre el total de consultantes de primera vez ajustados a un mes y el “máximo habitual de primeros consultantes esperado”.

Estos cálculos se realizaron para las siete localidades afectadas durante el brote de 1962: Guajira, Sinamaica, Carrasquero, Isla de Toas, San Rafael de Mara, Santa Cruz de Mara, Sabaneta

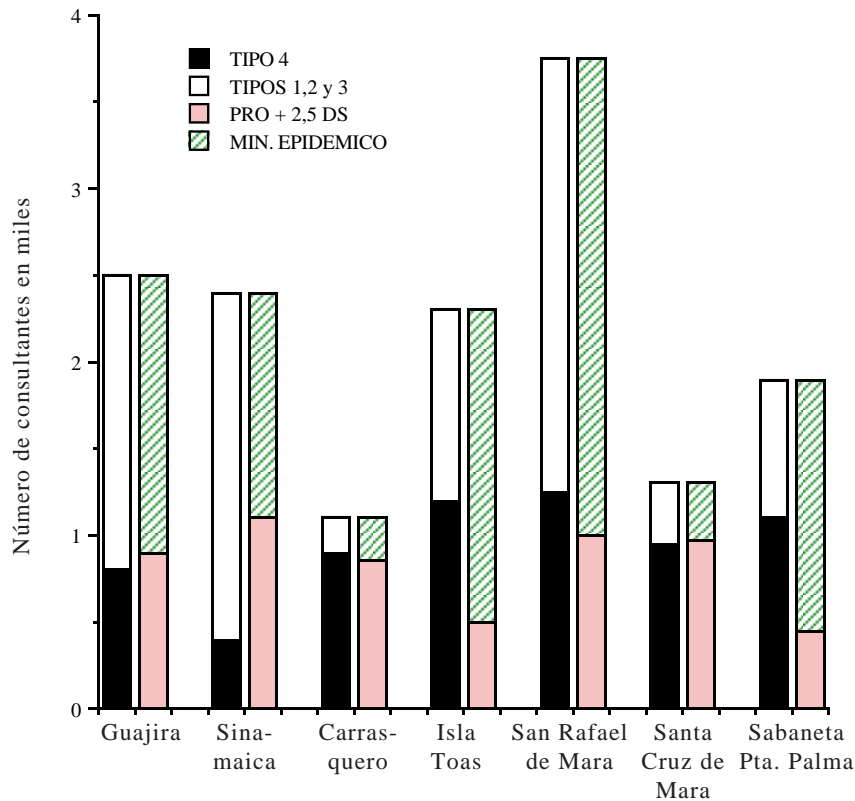


Figura 2. Cifras esperadas y observadas de consultantes por tipo y localidades

Mara, Santa Cruz de Mara y Sabaneta-Punta de Palma. Los datos están representados por un diagrama de barras en la Figura 2. La altura de las barras representa el número de primeros consultantes en miles, ajustados a un mes.

Como puede observarse cada barra correspondiente a cada localidad, está subdividida en dos hemibarras. En la primera de la izquierda se representa en negro el número de pacientes clasificados como grupo 4 (otras enfermedades) durante el brote. El resto de la misma hemibarra, en blanco, representa a los consultantes clasificados a los grupos 1 al 3.

En la segunda hemibarra de la derecha, se representa en el segmento punteado, el “máximo habitual de primeros consultantes esperado”, calculado en la forma arriba señalada. El resto de la hemibarra derecha, en blanco, representa el “mínimo epidémico”.

La comparación puede hacerse, como se comprende fácilmente, entre los segmentos en negro y punteado, o entre el segmento en blanco de la hemibarra izquierda y el “mínimo epidémico”. Uno u otro procedimiento conducen al mismo resultado, pues los datos de cada hemibarra son complementarios.

Utilizando el primero, podemos observar en la Figura 2, que con excepción de la localidad de Sinamaica, en todas las demás los segmentos en negro de la primera hemibarra son mayores, iguales o no difieren significativamente del segmento punteado de la segunda hemibarra.

Esto significa que los segmentos en blanco de la hemibarra izquierda son menores, iguales o no difieren significativamente del “mínimo epidémico” estimado (a excepción de Sinamaica). Es decir, que el “exceso de consultantes” durante el brote podría atribuirse razonablemente a la EEV. Recuérdese que de este exceso de consultantes sobre el esperado habitualmente, se restó el número de consultantes clasificado en el grupo 3, por lo que la cifra de casos finalmente atribuidos a la EEV es conservador y debe estar cercano por defecto, al número de casos que realmente ocurrió.

Nos resta explicar lo que ocurrió con la clasificación de los casos atendidos y registrados en Sinamaica. Para la fecha en la cual analizamos estos datos por primera vez en 1963, llegamos a la conclusión de que en esta localidad por alguna circunstancia no determinada, hubo un exceso de consultantes clasificados en los grupos 1 al 3 (o un

número menor de consultantes clasificados en “otras enfermedades”, por lo cual el segmento en negro de la hemibarra izquierda difiere significativamente del segmento punteado de la hemibarra derecha en esa localidad).

El tiempo y datos reunidos posteriormente nos ha llevado a modificar esta explicación.

Durante 1967, Ryder, Finol y Soto realizaron una encuesta serológica en las localidades afectadas en el Estado Zulia por el brote de EEV en 1962 (19). Un total de 793 muestras de sangre de humanos se analizaron con la prueba de hemaglutinación según la técnica de Clarke y Casals y la prueba de neutralización de acuerdo a la técnica de inhibición de placas bajo agar. Llamó la atención de los investigadores que en Sinamaica ocurriera un 44% de anticuerpos positivos contra un 31,5% en Guajira y 20% en Isla de Toas. Estos datos parecen confirmar una mayor intensidad del brote de 1962 en la primera localidad en comparación con las otras dos, por lo que muy probablemente no hubo error en la clasificación de los consultantes como se había pensado inicialmente.

Hay otros datos que corroboran lo anteriormente afirmado.

Después de esta encuesta, en 1968, un nuevo brote de EEV afectó a las poblaciones del Distrito Páez y la distribución de los casos señaló que sólo un 42 por mil de los residentes de 6 años y más, contrajeron la enfermedad, mientras que un 110 por mil de la población menor de 6 años, que era la población susceptible para la época, fue afectada (20).

Lo más interesante es que la tasa de morbilidad calculada con los casos registrados y clasificados según los mismos criterios de 1962 ya descritos, fue de 68,7 por mil en Guajira y apenas de un 26,9 por mil en Sinamaica. Se corroboran así las cifras de los resultados serológicos de la encuesta de 1967 y la clasificación clínica de los consultantes en 1962.

La distribución por los grupos de edades mencionados anteriormente, son igualmente diferentes y hablan en favor de la mayor intensidad del brote en Sinamaica en 1962. Mientras que para la Guajira las tasas de menores de 6 años son 2,5 veces más altas que las del grupo de 6 y más años, en Sinamaica la razón alcanza casi a 5. Esto nos indica que la población de 6 y más años estaba proporcionalmente más protegida por la intensidad del brote de 1962, en la última localidad.

Características anatomoclínicas. La EEV es un buen ejemplo de la importancia que tiene para el diagnóstico la observación de las características de la enfermedad en la comunidad (epidemiología). Ante el paciente individual el médico no puede realizar el diagnóstico con las solas características clínicas. Al examinar un conjunto de pacientes tendrá la oportunidad de observar toda la gama de formas clínicas que pueden presentarse: las formas frustras, que pasarían inadvertidas si se examinaran aisladamente; las formas sistémicas, que presentan una reacción generalizada, confundible con la influenza u otras virosis comunes y las formas localizadas al sistema nervioso central, que a pesar de ser las menos frecuentes son las que generalmente hacen sospechar e identificar la enfermedad.

En la Figura 3 presentamos esquemáticamente la evolución natural de la EEV, de acuerdo a la experiencia acumulada al observar cientos de casos (21). Sobre la horizontal, que representa el horizonte clínico, observamos la “fase sistémica”, con duración de 1 a 3 días, caracterizada por fiebre alta, cefalea intensa y los otros signos y síntomas enumerados con anterioridad al describir los pacientes clasificables al “grupo 1”. Esta fase es la observada en la mayoría de los pacientes, alrededor de un 95%. Al desaparecer puede presentar una sensación de bienestar, que en el resto de los casos (4 a 5%), dura de 24 a 36 horas, apareciendo la “fase encefalítica”, con duración de 1 a 5 días, más frecuente en los niños. Esta fase puede cursar sin fiebre. En estos casos se observa un comportamiento claramente bifásico.

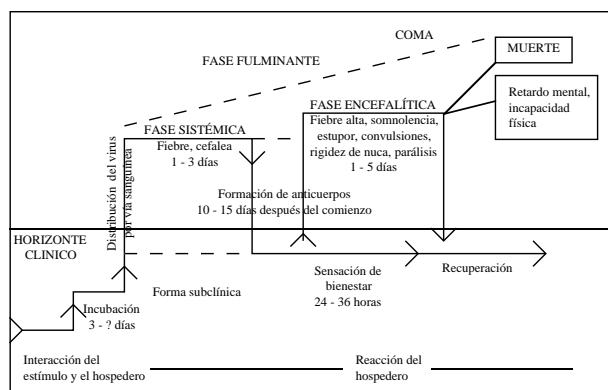


Figura 3. Evolución natural de la encefalitis equina venezolana

En otros pacientes no se presenta la sensación de bienestar intermedia y se pasa de una fase a la siguiente. Bajo el horizonte clínico representamos las formas frustras, sin signos o síntomas, es decir, no observables ni por el mismo paciente. Estas formas subclínicas se han demostrado posteriormente por la presencia de anticuerpos específicos. En algunos pacientes, generalmente en edad escolar, hemos observado fiebre alta de aparición brusca y coma, con alta letalidad (forma fulminante).

El período de incubación es de 2 a 4 días, pero se han descrito casos con 28 a 38 horas (22).

Para la descripción de las características sanguíneas y del líquido cefalorraquídeo (LCR) nos basamos en la serie de Castillo, que es la serie más larga estudiada hasta la fecha: 134 casos de niños hospitalizados con la fase encefalítica (23). En el recuento leucocitario la combinación más frecuente fue neutrofilia con leucopenia. Solamente en un 20% se contaron 15 mil o más leucocitos por milímetro cúbico. En los casos graves se constató leucocitosis de 30 a 40 mil elementos y ausencia de eosinófilos. En el LCR el número de células, en su mayoría linfocitos, está dentro de límites normales; prácticamente no hubo aumento de proteínas y en el 70% de los casos se observó glucorraquia. El benjuí coloidal se practicó en 45 casos y en todos resultó normal.

De esta misma serie, Castillo refiere que en 44 egresados observados, a los seis meses, 5 de ellos habían presentado secuelas psicomotoras: parálisis flácidas o espásticas muy generalizadas, temblor, insomnio, alucinaciones, irascibilidad y crisis epileptoides (23). En los casos estudiados en el brote de Texas no se registraron secuelas graves, según los autores porque no hubo casos suficientes como para observar datos relevantes en ese sentido (22).

El único estudio de cohorte disponible para apreciar secuelas de EEV, es el de León, de la Universidad del Valle, Cali, Colombia (24). El seguimiento se hizo a 49 niños del caserío El Carmelo, donde ocurrió un brote de EEV en 1967, divididos en cuatro grupos: A, con la fase encefalítica; B, con la fase sistémica; C, con enfermedad distinta a la EEV y E, sanos. El grupo D, sin enfermedad, pero con anticuerpos positivos, no pudo evaluarse por ser sólo de 3 niños. Todos los casos fueron confirmados o descartados por el laboratorio.

En los exámenes consecutivos realizados en 1968, 1969 y 1972, se encontró un 39% de desórdenes neurológicos y de electroencefalogramas (EEG) anormales en el grupo A, contra un 14,1% y un 7%, respectivamente, en el grupo E. Los grupos B y C presentaron porcentajes intermedios. De acuerdo a su edad, los niños se sometieron a las pruebas de inteligencia de Wechsler o Brunet-Lezine, resultando los del grupo E un 37% por encima de la cuartilla superior, contra un 6% de los del grupo A. Los grupos B y C presentaron porcentajes intermedios.

Dentro de los desórdenes neurológicos los autores refieren disartria, trastornos motores y reflejos patológicos. Durante el período 1968-69 no se refieren convulsiones en ninguno de los niños. Durante 1969-70 uno de los niños del grupo A presentó dos episodios de convulsiones y durante el período 1970-71, 3 de los 6 niños del mismo grupo, presentaron 22 episodios convulsivos, uno de ellos con status epilepticus. Los EEG de estos 3 niños fueron encontrados definitivamente anormales.

Todas las diferencias señaladas alcanzaron significancia estadística. Sin embargo, estos hallazgos requieren confirmación en una muestra de mayor tamaño.

En relación a la posibilidad de la transmisión placentaria del virus de la EEV existen evidencias descritas por Wenger, del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Maracaibo, durante el brote de 1962 (25). Se observaron 8 casos de graves lesiones encefálicas en fetos, con evidencia de que 5 de las madres habían padecido la enfermedad entre el tercer y el cuarto mes del embarazo y las restantes vivían en la zona epidémica. Las lesiones de los fetos de estas últimas son semejantes a los de las anteriores y ocurrieron durante el corto período de la epidemia, por lo cual razonablemente pueden atribuirse también al virus.

De acuerdo a Wenger, en el feto se produce una necrosis masiva de los hemisferios cerebrales que desciende hasta el bulbo, seguida de una reabsorción del material necrótico. El resultado es comparable a una hidroanencefalia. La sintomatología del recién nacido es de una descerebración. Estos fetos nacen generalmente a término y sobreviven no más de 2 a 3 días.

Estas lesiones han sido provocadas experimentalmente en monos rhesus (26) y ratas (27). Igualmente se han descrito infecciones intrauterinas con lesiones neurológicas en otros arbovirus, en especial en EEO (28). El efecto fetotóxico del virus

de la EEV se ha descrito también hasta en su forma atenuada o vacuna a virus vivo TC-83, aplicada durante un embarazo inadvertido, provocando una defunción por hydrops fetalis (29). La seroconversión materna y la presencia de un infiltrado de células mononucleares difuso al examen post-mortem son sugerentes del papel causal de la vacuna TC-83.

En relación a las características histológicas de las defunciones de casos con la fase encefálica, de acuerdo al estudio realizado por Domínguez, anatomopatólogo del Hospital Universitario de Caracas, "las lesiones que caracterizan el proceso están localizadas preferentemente a nivel del tallo encefálico y en especial a la altura de la sustancia negra. A este nivel se observan densos infiltrados perivasculares en forma de manguitos con proliferación glial alrededor de los vasos, del tipo de las microglías, que exhiben a veces el aspecto sincisial parecido al que se observa en la encefalitis perivenosa. Existen también nodulillos de proliferación glial localizados en la proximidad de los grandes vasos; y otras veces nodulillos gliales centrados por un capilar" (30).

Según Wenger, en estudios experimentales se ha observado que el virus venezolano a veces produce más lesiones vasculares que nerviosas, al punto que se ha sugerido que sea pantrópico y no neurotrópico y que las lesiones nerviosas pudieran ser secundarias a las vasculares (25).

Características epidemiológicas. De acuerdo a la experiencia de los brotes epidémicos de 1962 a 1973, en el promedio hasta un 10% de una comunidad puede llegar a afectarse en un brote de la enfermedad, con una variación que va del 3 al 16%, considerando las manifestaciones clínicas.

De acuerdo a los resultados de las encuestas serológicas realizadas en el Estado Zulia en 1967, en dos grupos de localidades: unas con historias recientes de brotes epidémicos y otras aparentemente sin epidemias para el momento del estudio, se encontró, como ya hemos señalado anteriormente, de un 20 a un 44% de positividad en el primer grupo. En el segundo grupo el promedio de positividad fue del 10% (19).

De acuerdo a las tasas globales de ataque, en base a las manifestaciones clínicas, en 1962 no se observaron diferencias entre los sexos. Sin embargo, hubo un mayor registro de casos del sexo femenino en el grupo de 15 años y mayores y de casos del sexo masculino en el de menores de 15

años (5). De acuerdo a los resultados de la encuesta serológica de 1967, la distribución de los positivos por sexo no acusó preferencia entre varones y hembras (19).

Las tasas en base a datos clínicos no parecen concordar con las encontradas en la epidemia de Texas, donde la razón hombre: mujer de 2:1 y las tasas de ataque más elevadas por edad, indican que probablemente la exposición ocurre fuera del hogar y en relación con el trabajo o las actividades propias del sexo (22). Recuérdese que ésta es la primera epidemia descrita en Estados Unidos. En cambio en el Estado Zulia, expuesto a epidemias frecuentes explicaría la distribución global por sexo y sus diferencias por grupos de edades.

En general, en todas las localidades, con excepción de Caripe y Carúpano (1964), las tasas fueron mayores en los menores de 15 años, en especial en los grupos de 1-4, 5-9 y 10-14 años de edad. Desde el punto de vista clínico y serológico se ha observado cierta protección en los niños menores de 1 año, explicable por anticuerpos maternos transmitidos.

Los resultados descritos no difieren de los encontrados en Colombia. En un estudio serológico realizado en Atuncela, después del brote de 1967, se encontraron anticuerpos en un 37%. En El Carmelo, la positividad varió de 22 al 25% (31).

En relación a la mortalidad registrada y confirmada (17), ocurre en menores de 15 años, sin diferencias entre los sexos y en los mismos grupos de edad ya señalados para la morbilidad. La mortalidad por EEV en los grupos de 5-9 y de 10-14 años de edad es mucho mayor que la registrada por mortalidad general en esos mismos grupos.

Subtipos y variantes del virus EEV. Desde el trabajo de Young en 1969 (32), sabemos que el virus de la EEV no es único, sino un complejo de virus que se distinguen como subtipos y variantes.

Mediante la técnica de la hemaglutinación química ha sido posible identificar los subtipos I al IV, conservando el primero el nombre de EEV, el II o Florida, el III o Mucambo (Brasil, Surinam, Trinidad) y el IV o Pixuna (Brasil).

En el subtipo I se han distinguido hasta ahora las siguientes variantes: I-A (Venezuela 1938, Trinidad 1943); I-B (Perú, Ecuador, Honduras); I-C (Venezuela 1963, Colombia 1962); I-D (este de Panamá); I-E (oeste de Panamá, México); I-F (Brasil).

De todos los subtipos y variantes, los únicos que

muestran patogenicidad para los équidos, son los I-A, I-B e I-C. Como también son patógenos para el hombre se les conoce como epizootómicos, es decir, capaces de producir epizootias y epidemias.

El resto de subtipos y variantes se mantienen en la naturaleza, circulando entre roedores silvestres de los géneros *Proechimys*, *Sigmodon*, *Oryzomys*, *Heteromys* y *Zigodontomys*, mediante vectores del género *Culex*, subgénero *Melanoconium*. Estos hospedadores parecen estar adaptados a los subtipos y variantes virales y por ello se les considera como hospedadores silentes.

Además de los roedores, se han aislado de marsupiales y murciélagos, así como también se han detectado anticuerpos en algunas especies de estos grupos. Se han efectuado aislamientos también de perezas y primates. En una encuesta serológica efectuada por nosotros entre 1967 y 1969, se encontró un 7% de anticuerpos para EEV (sin distingos de variantes), en araguatos (*Allouatta seniculus*), de los Estados Anzoátegui, Cojedes, Guárico, Miranda y Portuguesa (33). El papel de estos mamíferos en el mantenimiento de la EEV no está claro todavía.

Los subtipos y variantes I-D al I-F, II, III y IV infestan al hombre tangencialmente, cuando éste entra en el nicho del ciclo, presentando en general un cuadro febril benigno con malestar generalizado y de corta duración. Este ciclo se ha denominado enzoótico, por estar circunscrito a los animales silvestres mencionados, pero en vista de que el hombre puede infestarse, lo correcto sería llamarlo enzootómico.

Se ha especulado mucho sobre el papel de las aves, en especial las garcitas por su carácter migratorio, en el mantenimiento y difusión de estos virus. A pesar de que los virus se han aislado de unas pocas especies y se han detectado anticuerpos en un número un poco mayor, los estudios no son concluyentes por ser hasta ahora insuficientes. El problema de la investigación parece residir en la relativa alta proporción de especies de aves a estudiar en comparación con el relativo escaso número de especies de roedores y otros mamíferos que coexisten en un área determinada (34).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto pueden distinguirse dos ciclos para el mantenimiento de los virus de la EEV en la naturaleza: a) el enzootómico, producido por los subtipos y variantes I-D, I-E e I-F, mantenido por roedores silvestres y vectores del género *Culex* (*Melanoconium*), en el que el hombre puede infestarse ocasionalmente; b) el epizootómico,

producido por los subtipos y variantes I-A, I-B e I-C, mantenido por équidos y vectores de los géneros *Aedes*, *Manzonia*, *Psorophora* y *Anopheles*, en el que el hombre se infesta frecuentemente. Existen evidencias de que otros mamíferos como el perro, la cabra y el cerdo pueden infestarse tangencialmente.

Como los niveles de viremia en el hombre pueden alcanzar títulos entre 10^5 y 10^7 (35), se ha especulado sobre la posibilidad de infección de vectores en el hombre y la existencia de un ciclo interhumano, mediante vectores domésticos como el *Aedes aegypti*, el cual se ha infestado natural y experimentalmente con el virus. Existen igualmente evidencias de brotes en localidades donde fue el único vector recolectado, tales como Carúpano (16) y Guasipati (36), persistentes después del brote en animales.

Finalmente, debido a que el virus EEV (probablemente I-C), se ha aislado de la garganta de pacientes en los primeros días de la enfermedad (35) y la posible ruta de infección de los casos contraídos en el laboratorio es mediante la inhalación (11), se conjetura sobre la posibilidad de esta vía de infección interhumana. Sin embargo, no existen evidencias de que este mecanismo de transmisión sea importante en la difusión de la enfermedad en la naturaleza.

Los brotes de 1992-93 y 1995. Desde 1973, fecha del último brote de importancia, descrito en el Estado Zulia (Cuadro 1), no se dispone de información sobre la ocurrencia de la enfermedad en el país, salvo casos aislados y no confirmados por el laboratorio, ni relacionados con enfermedad concomitante en équidos.

Este silencio está al menos documentado en la zona de la ocurrencia de este último brote, pues un estudio serológico para determinar anticuerpos contra EEV, en niños entre 5 y 7 años, provenientes de los Distritos Mara y Páez, llevado a cabo por Ryder (37) en 1981, demostró ausencia total de anticuerpos contra la enfermedad.

Se refiere igualmente en ese trabajo que una encuesta realizada el año anterior, demostró que alrededor de un 65% de los équidos examinados estaban desprotegidos. Otro indicador señalado fue la ausencia del virus en los animales centinelas colocados en el área.

Resultados similares se obtuvieron en una encuesta serológica repetida en la mismas localidades en 1986, según comunicación personal de Ryder y en 1992 (38).

Entre 1983 y 1984 se realizó un estudio serológico en varias poblaciones de la zona de Barlovento, Miranda, aislándose virus a partir de mosquitos y demostrándose la circulación del virus mediante la seroconversión en animales centinelas. Así mismo se demostró un 12% de anticuerpos presentes en 66 sueros humanos. Sin embargo, solamente uno de ellos correspondía a un menor de 14 años. Los demás podrían haberse infestado en la epidemia de 1963 (39).

No es sino hasta diciembre de 1992 que se tiene conocimiento de un brote en équidos y humanos en la costa sur del Lago de Maracaibo, en el Estado Trujillo, donde se aisló el virus en dos muestras humanas y en seis de animales (Querales, comunicación personal). Este brote se prolongó hasta los primeros meses de 1993, presentándose manifestaciones en animales y humanos en el Municipio Perijá del Estado Zulia, donde también se aisló e identificó virus EEV.

Las características de este brote no se conocen con mayor detalle pues no encontramos datos precisos en el Boletín Epidemiológico de la Dirección de Vigilancia Epidemiológica del MSAS, ni se han publicado informes de su ocurrencia todavía, por parte de quienes lo estudiaron.

Sin embargo, análisis antigénicos y genéticos realizados en cinco de los virus aislados (3 humanos y 2 equinos) realizados en el Departamento de Epidemiología y Salud Pública, de la Escuela de Salud Pública de la Universidad de Yale, New Haven (EE.UU.), enviados por las doctoras Julieta de Siger y Gladys Medina del Instituto de Investigaciones Veterinarias, Maracay y Rosa Alba-Salas del Instituto Nacional de Higiene, Caracas, demostraron ser antigénicamente intermedios entre los subtipos y variantes I-C e I-D (40).

Estos hallazgos parecen constituir una evidencia de la mutación sospechada entre virus enzootómicos y epizootómicos. En efecto, a pesar de que estos dos grupos virales han sido considerados históricamente entidades separadas, sólo pocos cambios nucleóticos separan la variante I-D de las epizootómicas. Sin embargo, los cambios fenotípicos asociados aparentemente determinan diferencias marcadas en su epidemiología. Actualmente se realizan muchas investigaciones para comprender los mecanismos moleculares por los cuales los virus enzootómicos inocuos para los équidos generan los virus epizootómicos agresivos.

Estos brotes de los años 1992-93 quedaron localizados a los lugares antes mencionados y, durante 1994 y la primera mitad de 1995 hubo un silencio clínico de la EEV en todo el país.

El día 17 de mayo del último año, se tuvo conocimiento en el Servicio Regional de Epidemiología del Estado Falcón de un brote de EEV en équidos, en Tucacas, hacia la zona oriental. Entre mayo y junio se registraron muertes de équidos y casos febriles en humanos, en municipios más hacia el centro del Estado. En la última semana de junio se tuvo conocimiento del primer aislamiento del virus EEV, en el Instituto Nacional de Higiene, de una paciente de Queparo (41).

Para la semana del 22 al 28 de octubre, se habían registrado 627 casos en el Estado Falcón; 20 casos con 2 defunciones en el Estado Yaracuy; 90 casos en el Estado Lara y 10 575 "casos febriles" en el Estado Zulia (Municipios Miranda, Mara, Padilla y Páez), de los cuales, de acuerdo a los resultados de laboratorio, un 60% podrían atribuirse a EEV. El resto de "casos febriles" en el Zulia podrían ser considerados como dengue en su mayoría, con algunas manifestaciones hemorrágicas. En este Estado se atribuían hasta dicha fecha 13 defunciones por EEV (42).

De acuerdo a las fechas aceptadas de comienzo de estos brotes, se iniciaron en el Estado Falcón, el 2 de julio, propagándose al Municipio Miranda del Estado Zulia el 9 del mismo mes; para el 23 aparecieron los brotes de los Estados Yaracuy y Lara. El 2 de agosto aparecieron casos en el Municipio Padilla y el 3 en los alrededores de Maracaibo (Zulia). Para el 31 de agosto la epidemia se había extendido a los Municipios Mara y Páez. En esta oportunidad la epizootemia se ha iniciado en el Estado Falcón y de allí se ha movido al sur, al este y al oeste, contrariamente a las ocurridas en 1936, 1943, 1962, 1968 y 1969, que se iniciaron en la Guajira, como describimos al comienzo de este trabajo.

En esta ocasión se registraron casos humanos y animales en el Estado Carabobo, confirmados por aislamiento de virus. Oficialmente se aceptan hasta la fecha de escribir este informe 3 casos humanos.

De acuerdo a los Boletines Epidemiológicos de los cuales tomamos los datos anteriores, el estudio antigénico de 5 de los virus aislados, permitió identificarlos como I-C.

Consideramos los datos de los brotes del año 1995 como preliminares y se citan únicamente con la finalidad de demostrar la circulación reciente del virus en un área apreciable del país. Estos hechos ponen en evidencia la necesidad de la coordinación urgente de esfuerzos entre los Ministerios de Sanidad y Asistencia Social y el de Agricultura y Cría para una mayor eficacia en la vigilancia y el control de esta enfermedad en el país

REFERENCIAS

1. Sanmartin C. En: Venezuelan Encephalitis. Publicación Científica de la OPS 1972;243:26-27.
2. Madalengoitia J. En: Venezuelan Encephalitis. Publicación Científica de la OPS 1972;243:198-201.
3. Albornoz JE. La peste loca de las bestias en Colombia. Bol de Agr 1935;26:1-8.
4. Kubes V. La peste loca de las bestias. Sus manifestaciones, tratamiento y prevención. Min. de Agr. y Cría de Venezuela, 1936.
5. Avilán Rovira JM. El brote de encefalitis equina venezolana al norte del Estado Zulia a fines de 1962. Rev Venez Sanid Asist Soc 1964;29:231-321.
6. Kubes V, Ríos FA. Datos preliminares sobre el agente etiológico de la encefalomyelitis infecciosa de los equinos en Venezuela. Min de Agr y Cría. Caracas: Lit y Tip Vargas, 1939.
7. Tigertt WD, Downs WG. Studies on the virus of Venezuelan equine encephalomyelitis in Trinidad, W:I: I. The 1943-1944 epizootic. Am J Trop Med Hyg 1962; 11:822-834.
8. Kubes V, Ríos FA. The causative agent of infectious equine encephalomyelitis in Venezuela. Science 1939;90:20-21.
9. Beck CE, Wyckoff WG. Venezuelan equine encephalomyelitis. Science 1938;88:530-531.
10. Kubes V, Gallia F. Neutralización del virus encefalomyelítico equino tipo Venezuela por sueros humanos. Gac Méd Caracas 1944;51:88-95.
11. Gallo P, Lugo A. Estudios clínicos y experimentales sobre un caso de encefalitis humana debida al virus encefalomyelítico equino tipo Venezuela. Rev Med Vet Paras Caracas 1947;6:34-45.
12. Negrette A. Epidemia de encefalitis del año 1959, en Maracaibo (San Francisco), Estado Zulia, Venezuela. Aspectos históricos y epidemiológicos. Invest Clín 1974;36:237-246.
13. Sanmartin C, Groot H, Osorno E. Human epidemic in

- Colombia caused by Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Am J Trop Med Hyg* 1954;3:283-293.
14. Sellers RF, Bergold GH, Suárez OM, Morales A. Investigations during the Venezuelan equine encephalitis outbreaks in Venezuela, 1962-1964. *Am J Trop Med Hyg* 1965;14:460-469.
 15. Chamberlain RW. En: Venezuelan Encephalitis. Publicación Científica de la OPS 1972;243:144-147.
 16. Avilán-Rovira JM. Los brotes de EEV en Venezuela durante 1963 a 1964. *Rev Venez Sanid Asist Soc* 1966;31(3):787-805.
 17. Avilán-Rovira JM. Epidemiología de las encefalitis en Venezuela según las estadísticas de mortalidad. *Tribuna Méd* 1972;36:5-16.
 18. Avilán-Rovira JM, Quiroz C. Pautas para la vigilancia de los casos humanos y animales de EEV y otras arbovirosis en los Servicios Locales. *Rev Venez Sanid Asist Soc* 1966;31(3):809-828.
 19. Ryder S, Finol LT, Soto-Escalona A. Anticuerpos contra EEV en la población humana del Estado Zulia, Venezuela, en 1967. *Invest Clín* 1971;39:37-51.
 20. Soto-Escalona A, Finol LT, Ryder S. Estudio de un brote de EEV en el Distrito Páez, Estado Zulia, en octubre de 1968. *Invest Clín* 1969;31:45-57.
 21. Avilán-Rovira JM. Historia natural de la EEV. En: Recopilación de Normas, Pautas y Procedimientos. Departamento de Demografía y Epidemiología, Servicio de Publicaciones del SAS 1972;297-329.
 22. Bowen S, Fashinell TR, Dean PB, Gregg M. Aspectos clínicos de la EEV humana en Texas. *Bol Of Sanit Panam* 1977;82(6):506-518.
 23. Castillo C. Informe sobre una reciente epidemia de EEV en la zona norte del Estado Zulia. *Rev Venez Sanid Asist Soc* 1964;29:325-348.
 24. León CA. Sequelae of VEE in humans: a four year follow-up. *Int J Epidemiol* 1975;4(2):131-140.
 25. Wenger F. Hallazgos de anatomía patológica en la reciente epidemia de EEV. *Invest Clín* 1963;7:23-45.
 26. London WT, Levitt NH, Kent SG, Wong VG, Sever JL. Congenital cerebral and ocular malformations induced in Rhesus monkeys by VEE virus. *Teratology* 1977;16:285-289.
 27. García-Tamayo J. Placental and fetal alterations due to VEE virus in rats. *Infect Immunol* 1981;32:813-820.
 28. Copps S, Giddings LE. Transplacental transmission of Western Equine Encephalitis. *Pediatrics* 1959;24:31-33.
 29. Casamassina AC. Venezuelan equine encephalitis vaccine exposure during pregnancy. *Teratology* 1987;36:287-289.
 30. Domínguez A. Estudio neuroanatomopatológico en la EEV. *Invest Clín* 1963;6:7-10.
 31. Sanmartín C, Mackensie RB, Trapido H. Encefalitis equina venezolana en Colombia en 1967. *Bol Of Sanit Panam* 1973;74:108-137.
 32. Young N. Serologic differentiation of viruses of the Venezuelan Encephalitis complex. En: Venezuelan Encephalitis. Publicación Científica de la OPS 1972;243:84-89.
 33. Avilán-Rovira JM, Fossaert H. Labor cumplida por la Comisión Nacional de Arbovirus. *Salud Pública* 1970;42:70-84.
 34. Dickerman RW. Silent Hosts: Birds. En: Venezuelan Encephalitis. Publicación Científica de la OPS 1972;243:281-283.
 35. Briceño-Rossi AL. Estudios del virus encefalomielítico equino venezolano. *Rev Venez Sanid Asist Soc* 1964;29:425-429.
 36. Suárez OM, Bergold GH. Investigations of an outbreak of VEE in towns of eastern Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 1968;17:875-880.
 37. Ryder S. Encefalitis equina venezolana. Evaluación de la inmunidad contra el virus en la población menor de 7 años en la Guajira Venezolana. *Invest Clín* 1981;22(4):213-220.
 38. Ryder S, Nuñez-Camargo J, Rangel P, Añez F. Encefalitis equina venezolana. Determinación de anticuerpos en la población humana del Municipio Miranda, Estado Zulia, Venezuela. *Invest Clín* 1993;34(3):135-141.
 39. Querales J, Plaz J, Fernández H, Acine F. Estudio seroepidemiológico de encefalitis por virus venezolano en la región de Barlovento. *Rev Inst Nac Hig* 1985;28(2):43-49.
 40. Rico-Hesse R, Weaver SC, Siger J, Medina G, Salas R. Emergence of a new epidemic/epizootic Venezuelan encephalitis virus in South America. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:1-4.
 41. Boletín Epidemiológico Semanal. Dirección de Vigilancia Epidemiológica del SAS, 16 -22 de julio de 1995;29:348-349.
 42. Boletín Epidemiológico Semanal. Dirección de Vigilancia Epidemiológica del SAS, 22-28 de octubre de 1995;43:511.