

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

MVZ., M.S. Ph. D. A. MORILLA GONZÁLEZ

*Investigador del Instituto
Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G. México.*

I. Introducción	163
II. Agente etiológico	161
1. Propiedades físicas y químicas	165
2. Sistemas de cultivo y huéspedes susceptibles	165
3. Multiplicación viral	166
4. Sub tipos del virus	166
5. Serología	166
III. Patogenia	167
IV. Diagnóstico	16 8
V. Ecología de la E.E.V.	169
1. Artrópodos y otros medios de transmisión de la EEV	172
2. Mamíferos	176
3. Aves	178
VI. Encefalitis Equina Venezolana en México	178
Referencias	194

I. Introducción

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 (83) por una parte, y por Beck y Wickoff (7) 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, Camp., México (37). Posteriormente se ha reportado de la presencia del virus en otros países de América, donde ha provocado graves epizootemias siendo una de las más notables la ocurrida en los años de 1969 a 1972 en Norte, Centro y Sudamérica (127).

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 aquéllos pueden intervenir en el ciclo ecológico (36). 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 (138). Uno es el ciclo enzootémico 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 epizootémico en el cual existe una amplia difusión del virus en la naturaleza y se manifiesta en 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 (8). En el reciente brote 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 (100).

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 (66). 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.

II. Agente etiológico

El virus de la EEV ha sido incluido dentro del grupo (A) de los arbovirus o togavirus (134). Es un virus peligroso de trabajar

en el laboratorio debido a la facilidad con que los seres humanos pueden contraer la infección. Sin embargo, la vacunación del personal y usando medidas de seguridad y las precauciones adecuadas es posible manipular el microorganismo reduciendo los riesgos a un mínimo.

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 al microscopio electrónico, ésta presenta una superficie de apariencia difusa y de proyecciones muy finas (91).

El tamaño de los viriones ha sido estimado al microscopio electrónico entre 65 y 75 nanómetros (93). Estructuralmente el virus está formado por un genoma de ácido ribonucleico (ARN) de cadena sencilla. Además posee 3 polipéptidos, uno con alto contenido en lisina, asociado con el ARN y otros dos, que son glicoproteínas y que junto con los lípidos estructurales forman la membrana viral (91, 96). Por otro lado, la hemaglutinina es un componente inmunogénico en la superficie del virión y probablemente corresponden a las proyecciones de glicoproteína (94, 96). En lo que respecta a la relación de proteína: lípido: ARN ésta es de 70: 24: 6 (130).

El virus se inactiva con desoxicolato de sodio 1: 1000 y con éter indicando que posee lípidos esenciales (124). También se inactiva parcialmente con formalina, es sensible al ácido y se inactiva rápidamente a 37° C (120).

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, hamsters, pollos de un día de nacidos, monos *Macaca mulata*, perros y algunas aves (21, 26, 62, 121).

Entre los cultivos celulares en los que el virus puede multiplicarse se encuentran las células de útero humano y canino, HeLa, renales de hamsters (BHK), hepáticas de "Chang", "L", conjuntivales, renales de mono, embrionarios de pollo, pulmonares de embrión de ratón, embrionarios de cobayo, "Mahen" y corazón de cobayo (8, 54, 69, 90).

3. *Multiplificación viral.* El virión se adsorbe a la superficie celular y penetra al citoplasma por el proceso de viropexis. 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. Éstos 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 4 o 5 horas después de la infección. Por otro lado, 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 7 u 8 horas en células de embrión de pollo con una producción máxima de virus por célula de 1500 a 3000 unidades formadoras de placa (14).

4. *Subtipos del virus*. Por medio de la prueba cinética de la inhibición de la hemaglutinación, Young y Johnson (138) clasificaron el virus de la EEV en subtipos. El subtipo IA corresponde a la cepa de Beck y Wickoff y la de burro de Venezuela y Trinidad. En el subtipo IB 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; el subtipo ID se encuentra en Colombia y Panamá y el subtipo IE en Centroamérica y México, donde se ha considerado como cepa enzootémica. 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 (137).

Con respecto a los caballos, Walton y Johnson (131) han señalado que los subtipos IB y IC son más patógenos y provocan encefalitis en la mayoría de los casos, en comparación con los subtipos ID, IE, 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 (38, 40, 139).

5. *Serología*. Como respuesta a la infección, los seres humanos y animales producen en el suero anticuerpos neutralizantes (N), inhibidores de la hemoaglutinación (IB) y fijadores del complemento (FC). Los anticuerpos N e IB 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

suelo por toda la vida del individuo. Por otro lado, los anticuerpos FC aparecen aproximadamente a los 21 días y desaparecen alrededor de 1 año (136).

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 (68). 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 (16). Con respecto a la prueba de fijación del complemento (FC) ésta es de valor limitado ya que además de ser complicada en su elaboración, 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 (16, 52).

III. Patogenia

El virus de la EEV ataca a seres humanos de todas las edades, sin embargo, se ha observado que en ocasiones los individuos menores de 15 años de edad han sido los más afectados. El periodo de incubación es aproximadamente de 1.5 a 3.5 días. 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 (10, 65, 128).

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 mis-

mo 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, así como de la orina y leche. La recuperación de los caballos en ocasiones es lenta, o puede continuar con signos clínicos. Entre éstos se encuentra la depresión o excitabilidad, el caminar en círculos o apoyar la cabeza en las paredes, así como presentar pérdida del balance, movimientos masticatorios, flacidez de los labios, los ojos semi cerrados, nistagmus o las orejas caídas (61, 80).

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 el área 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 (88). El sistema reticuloendotelial presenta depleción del tejido hematopoyético, tanto en la médula ósea en la que hay disminución de elementos maduros, como 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. 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 (80).

IV. Diagnóstico

Debido a que existen otras enfermedades de los equinos que provocan síntomas de encefalitis, el diagnóstico clínico de la EEV tiene un valor relativo. Sin embargo, se sospecha de EEV cuando aparecen animales enfermos en áreas enzoóticas de clima tropical o sub-

tropical, durante la estación lluviosa y coincidiendo con un aumento en la población de mosquitos (28).

El diagnóstico más adecuado es a través del aislamiento e identificación del virus (136). Éste 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 (122). La suspensión viral es inoculada por vía intracerebral y subcutánea en ratones de 1 a 4 días de edad y de las 24 a 48 horas 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 (7, 62, 103). También se ha usado el embrión de pollo, el cual se inocula en el saco vitelino o membrana corionantoidea. En este caso, el embrión muere generalmente de 15 a 18 horas después de la inoculación (82). 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 al adicionar sueros hiperinmunes contra diferentes arbovirus al agar. En esta forma ha sido posible aislar el virus e identificarlo al mismo tiempo (92).

Las pruebas serológicas utilizadas comúnmente para el diagnóstico de la EEV han sido la seroneutralización (SN), inhibición de la hemaglutinación (IH) y la fijación del complemento (FC) (136). 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 (26) o neutralizar el virus (108). 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, precipitación en geles de agar e inmunofluorescencia (13, 15, 70).

V. Ecología 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 sospechado que el virus de la EEV tiene dos

ciclos en la naturaleza, uno enzootímico y otro epizootímico. Esta clasificación es empírica y se ha basado en características del virus tales como severidad con que ataca a seres humanos y animales, difusión en la naturaleza y características antigénicas (137).

Con respecto a los focos enzootímicos, 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



FIG.1. Distribución geográfica de la encefalitis Equina Venezolana en América hasta 1974.

una época definida o a través de todo el año. El virus ha sido aislado de áreas 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. 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 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* (63, 75, 77, 111, 127).

Los cambios en las condiciones ecológicas de los focos enzooticomic03 permiten un incremento de la actividad viral. En ocasiones, esto se traduce en brotes de la enfermedad ya sea en equinos o en seres humanos cercanos al área enzoótica. Los brotes generalmente coinciden con la presencia de una 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 (127). Por otra parte, los estudios de Young (137) han indicado que existe estabilidad antigénica de los virus presentes en una área 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 enzooticomicos al ID, IE, II, III y IV (137,138).

Por lo que toca al virus epizooticomico, éste tiene amplia difusión en la naturaleza y es capaz de provocar brotes en seres humanos y equinos de mayor magnitud que el enzooticomico. La mayoría de los casos han ocurrido cerca de las costas, sin embargo, se han presentado a diferentes alturas, llegando hasta los 2350 metros sobre el nivel del mar (99). Los climas han sido variados y en algunos casos de baja precipitación pluvial.

Se ha sospechado que los seres humanos y equinos pueden 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 (39). 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 (12, 78).

Las epizootemias tienden a difundirse hacia áreas donde se encuentran animales susceptibles. Se ha observado que en algunas ocasiones los brotes paran su movimiento en una región por varios meses, cuando las condiciones climáticas no son favorables y continúan tan pronto existan las condiciones adecuadas (78). No se ha podido determinar la forma cómo es transportado el virus en grandes distancias. Tampoco se conoce cómo aparecen en la naturaleza las cepas epi-

zoodémicas. Se ha especulado de que este virus existe en un ciclo natural hasta ahora no reconocido o puede aparecer por selección de los virus enzoodémicos (51). Se consideran como subtipos epizoodémicos al IB y IC. El subtipo IA después del aislamiento original no se ha podido volver a encontrar (138).

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 (6, 55), y de éstos es un número reducido de géneros los que son capaces de transmitir el virus en ciclos enzoodémicos. Por otro lado, en los epizoodémicos 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 eficientes transmisores del virus enzoodémicamente han sido *Culex (Melanoconion) aikenii* y *Culex (Melanoconion) portesi* (34, 57). Galindo y Adams (58) 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 áreas. 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 enzoodémico 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 (34).

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 (20). El umbral de infección, o la concentración

CUADRO 1

MOSQUITOS Y SIMÚLIDOS SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE
LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA *

<i>Mosquitos</i>	<i>Referencias</i>
<i>Aedes aegypti</i> (a)	101
<i>Aedes albopictus</i>	101
<i>Aedes angustivittatus</i> (a)	63, 102
<i>Aedes atlanticus</i>	24
<i>Aedes canadensis</i>	81
<i>Aedes geniculatus</i>	101
<i>Aedes mediovittatus</i>	123
<i>Aedes scapularis</i> (a)	110
<i>Aedes serratus</i> (a) (b)	17,42,110
<i>Aedcs sexlineatus</i> (a)	102
<i>Aedes sollicitans</i> (a)	116
<i>Aedes taelliorhynchus</i> (a) (b)	48, 110
<i>Aedes thelcter</i> (a)	116
<i>Aedes triseriatus</i> (a)	22,80
<i>Anopheles uquasalis</i>	110,24,117
<i>Anopheles crucians</i> (a)	81
<i>Anopheles freeborni</i> (a)	60
<i>Anopheles neomaculipalpus</i> (a)	19
<i>Anopheles nimbus</i>	102
<i>Anopheles punctimacula</i> (a)	116
<i>Anopheles p. pseudopunctipennis</i> (a)	115
<i>Anopheles quadrimaculatus</i> (a)	123
<i>Anopheles stephensi</i>	115
<i>Anopheles triannulatus</i>	1
<i>Coquillettidia albicosta</i> (b)	105
<i>Coquillettidia fasciolata</i> (a)	22
<i>Coquillettidia perturbans</i> (a)	1
<i>Coquillettidia venezuelensis</i> (b)	2
<i>Culex (E.) accelerans</i> (b)	57
<i>Culex (M.) aikenii</i> (b)	1
<i>Culex (M.) dbinensis</i> (b)	2
<i>Culex (E.) amazonensis</i> (b)	1
<i>Culex (M.) complejo B-19</i> (b)	1

* Cuadro preparado por C. R. Bautista Garfias. Programa de Encefalitis Equina, INIP, México.

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

CUADRO 1
(Continuación)

<i>Mosquitos</i>	<i>Referencias</i>
<i>Culex (c.) corniger</i> (a)	102, 105
<i>Culex (C.) coronator</i> (a)	102, 105
<i>Culex (M.) crybda</i> (b)	1
<i>Culex (M.) dunnii</i> (a)	55
<i>Culex (M.) erraticus</i> (a)	123
<i>Culex (M.) iolambdis</i> (a)	105
<i>Culex (C.) nigripalpus</i> (a) (b)	2
<i>Culex (M.) opisthopus</i> (a)	57, 105
<i>Culex (M.) pracrybda</i>	115
<i>Culex (M.) portesi</i> (b)	2, 76
<i>Culex (C.) quinquefasciatus</i> (a)	48, 56
<i>Culex (C.) salinarius</i> (a)	116
<i>Culex (M.) spissipes</i> (a) (b)	1, 115
<i>Culex (M.) T-11</i> (b)	1
<i>Culex (M.) T-/3</i> (b)	1
<i>Culex (M.) T-/7</i> (b)	1
<i>Culex (M.) taeniopus</i> (b)	56
<i>Culex (C.) tarsalis</i> (a)	81, 115
<i>Culex (C.) thriambus</i> (a)	105
<i>Culex (M.) vomerifer</i> (b)	56
<i>Culex (M.) ybarmis</i> (b)	2
<i>Culiseta inornata</i> (a)	18
<i>Deinocerites pseudus</i> (a)	105
<i>Haemagogus mesodentatus</i> (a)	105
<i>Haemagogus spegazzinii</i> (b)	1
<i>Limatus durhami</i> (a) (b)	1
<i>Limatus flavisetosus</i> (b)	76
<i>Mansonia indubitans</i> (a)	80
<i>Mansonia titillans</i> (a) (b)	60, 80
<i>Psorophora ciliata</i> (a)	41
<i>Psorophora cilipes</i> (a)	2
<i>Psorophora confinnis</i> (a)	110
<i>Psorophora cyanescens</i> (a)	41
<i>Psorophora discolor</i> (a)	41
<i>Psorophora ferox</i> (a) (b)	22
<i>Psorophora lutzi</i> (a)	105
<i>Sabethini</i> (a) (b)	17, 123
<i>Wyeomyia abebela</i> (a)	105
<i>Wyeomyia medioalbipes</i> (a) (b)	1, 105
<i>Wyeomyia mitchelli</i> (a)	105
<i>Wyeomyia occulta</i> (b)	1

a) Se encuentra en México.

b) Se ha aislado virus Mucambo y Pixuna.

CUADRO 1
(Continuación)

<i>Simúlidos</i>	<i>Referencias</i>
<i>Simulium callidum</i> (a)	102
<i>Simulium exiguum</i>	102
<i>Simulium metallicum</i> (a)	102
<i>Simulium mexicanum</i> (a)	102
<i>Simulium paynei</i> (a)	102

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

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 o menor dependiendo del género y especie de mosquito (118). 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* (53). 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.

Por lo que toca a la infección transovárica, ésta no se ha podido demostrar en *Mansonia indubitans* y *M. titillans* (80); aunque se ha encontrado virus a títulos mayores de 10^3 DL50/0.02ml/ic/rl en huevecillos de *M. pertubans* (22). 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 (132). De esta forma el microorganismo puede sobrevivir a través del invierno y perpetuarse en la naturaleza. En el caso de la EEV no se ha demostrado que este mecanismo ocurra, sin embargo, no puede descartarse la posibilidad de que ésta sea la manera de sobrevivir el virus de un año al siguiente.

Con respecto a otros artrópodos involucrados en la transmisión del virus se encuentran los simulidos (102). En estos dípteros no se ha demostrado que el microorganismo se multiplique y ocurra una transmisión biológica. También se ha sospechado que las moscas hema-

tófagas tales como las de los géneros *Tabanus*, *Chrysops* y *Stomoxys*, sean vectores mecánicos, principalmente en las epizootias en las que se presentan altas concentraciones de virus en la sangre de los equinos.

Otra forma de transmisión del virus es a través de la vía naso-oral.

Zárate y Scherer (142) por una parte y Howard (73) 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 del virus hacia el cerebro y que tanto el bulbo como el tracto olfatorio son muy susceptibles al microorganismo (32, 33). Probablemente ésta sea la vía de infección del personal de laboratorio ya que generalmente la transmisión ocurre a través de aerosoles (23,38).

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 desempeñado por muchos de estos animales en el ciclo del microorganismo en la naturaleza.

Se ha sugerido que el virus se encuentra en forma enzootica en roedores de vida subterránea. Entre estos mamíferos se hallan los géneros *Sigmodon*, *Heteromys* y *Zygodontomys* (75, 77). Esto es debido a que el virus ha sido aislado de estos animales con cierta frecuencia y que un elevado número de sueros tienen anticuerpos específicos.

Además la aparición de algunos brotes de la EEV en áreas geográficas limitadas, ha coincidido con un incremento de la población de roedores (24, 56, 75, 77, 106). Especialmente ha sido notable la presencia de la rata cañera *Sigmodon hispidus* (89, 127).

Debido al interés epizootológico 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 (141). Por otro lado, las ratas infectadas naturalmente pueden alcanzar 4 o 5 log DL50 de viremia con una duración alrededor de 5 días (75, 140). 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 (73, 142).

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 otras 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 (74, 95).

Con respecto a la transmisión trasplacentaria del virus en los animales se ha reportado que ocurre. En ratonas gestantes de laboratorio, la infección con la cepa vacunal TC-83 provoca un incremento en el número de abortos y una disminución del tamaño de las camadas y de la viabilidad de los ratones recién nacidos (114).

En los seres humanos se ha encontrado necrosis cerebral masiva en fetos y niños recién nacidos en los cuales las madres sufrieron la EEV durante la gestación (133). 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 (113).

El papel de los murciélagos en el ciclo de la EEV no es conocido. Se han encontrado anticuerpos específicos en el suero de varias especies y el virus ha sido aislado de murciélagos vampiro *Desmodus Totundus*, infectados naturalmente (30, 67). En condiciones de laboratorio, los vampiros inoculados son capaces de excretar el virus por la saliva a partir del quinto día de la infección (5,87). El hallazgo sugiere que ésta puede ser otra forma de transmisión de la EEV a los animales domésticos. Por otra parte, hay especies de murciélagos migratorios (129) que podrían difundir el virus de una zona a otra.

Con respecto a los seres humanos y equinos, éstos han sido involucrados como amplificadores de la cepa epizootémica del virus (78). 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 (36). Las vacas, cabras, cerdos y venados 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 (27, 46, 49, 72, 87).

3. *Aves*. Chamberlain *et al.*, en 1956 (21) inocularon aves silvestres con el virus de la EEV. En ese estudio las aves generalmente presentaron moderada viremia de una duración de 2 a 3 días, y los autores reportaron que estos animales no eran tan susceptibles a la infección como los mamíferos. Sin embargo, a partir de ese trabajo se han efectuado aislamientos del virus y se han encontrado anticuerpos en los sueros de aves silvestres (cuadro 3); estos hallazgos han sugerido que las aves intervienen de alguna manera en el ciclo natural de la EEV.

A este respecto, el virus de la EEV ha sido aislado de un gallo y un pollo naturalmente infectados en Venezuela (11). También se han aislado del *Butorides virescens maculatus* infectado naturalmente. Grayson y Galindo (63) 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 (35, 63). De esta manera a través de aves migratorias sería posible que el virus se difundiera en Latinoamérica.

Dickerman (42) y Young y Johnson (138) 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 se encontraron anticuerpos específicos (45). Estas observaciones han sugerido que quizá las aves migratorias no tienen 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, sin embargo, desarrollan anticuerpos específicos (11). Por otro lado, las aves *Icterus chrysater* y *Butorides striatus* al ser inoculadas desarrollaron viremia con títulos altos capaces de infectar mosquitos (63).

VI. Encefalitis Equina Venezolana en México

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 (37). 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,

CUADRO 2

MAMÍFEROS SUSCEPTIBLES AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Aotus tririgatus</i>	Monos de la noche		+		64
<i>Artibeus lituratus</i> (b)	Murciélago zapotero grande	+	+		63, 102
<i>Artibeus turpis</i> (b)	Murciélago frutero	+	+		135, 106
<i>Bos taurus</i> (b)	Ganado bovino		+		4, 110
<i>Bassaricyon gabbii</i>	Olingo			+	115
<i>Bradypus griseus</i>	Perezoso			+	115
<i>Caluromys derbianus</i> (b)	Tlacuache lanoso	+			102
<i>Canis familiaris</i> (b)	Perro, chuchó		+		110, 121
<i>Canis latrans</i> (b)	Coyote			+	86
<i>Capra sp</i> (b)	Cabra, chivo				110
<i>Carollia perspicillata</i> (b)	Murciélago carolia	+			97
<i>Carollia subrufa</i> (b)	Murciélago carolia	+	+		106
<i>Cavia cobaya</i>	Cuyo, conejillo de indias			+	7
<i>Cebus apella</i>	Mono capuchino	+		+	17
<i>Choloepus hoffmanni</i>	Perezoso, Unai		+		64
<i>Citellus leucurus</i>	Ardilla de tierra		+	+	125

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

(b) Se encuentra en México

(c) Virus Mucambo

(d) Virus Fixuna

(e) Animal Centinela

CUADRO 2
(Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Corynorhinus rafinesquii</i> (b)	Murciélago orejas de mula			+	31
<i>Cricetus auratus</i>	Hamster	+(e)			103
<i>Cuniculus paca</i>	Paca, conejos pintados, tepezcuinle		+		64
<i>Cyclopes didactylus</i> (b)	Tamandua o mico de noche, hormiguero scdoso		+		64
<i>Dasyprocta punctatus</i> (b)	Aguties, cuautiza, cutias			+	24
<i>Desmodus rotundus</i> (b)	Murciélago vampiro	+			30, 67
<i>Didelphis sp.</i> (b)	Tlacuache, zorra de monte	+	+		63, 102, 106, 110
<i>Dipodomys microps</i> (b)	Rata canguro		+		125
<i>Eptesicus fuscus</i> (b)	Murciélago moreno			+	31
<i>Equus sp.</i> (b)	Mula	+			84, 98
<i>Equus asinus</i> (b)	Burro, asno	+	+		3, 60, 62
<i>Equus caballus</i> (b)	Caballo	-	+	+	83
<i>Glossophaga soricina</i> (b)	Murciélago siricotero	+	+		106
<i>Heteromys anomalus</i>	Ratón de abazones	+(c)			47

(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
(Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Hoplomys gymnurus</i>	Rata espinosa o de setas		+		63, 64
<i>Lepus californicus</i> (b)	Liebre de cola negra		+		125
<i>Macaca mulata</i>	Mono Rhesus			+	71
<i>Marmosa mitchii</i> (b)	Tlacuatzines, ratón tlacuache	+(c)			64
<i>Metachirus nudicaudatus</i>	Cuicás, xixixa	+(c)			123
<i>Metachiroptis opossum</i>	Cuicá, opossum cola de rata	+			115
<i>Mus musculus</i>	Ratón de casa	+(e)			62, 71, 103
<i>Mustela frenata</i> (b)	Comadreja		+		63, 106
<i>Myotis lucifugus</i> (b)	Murciélago moreno			+	31
<i>Nasua nasua</i>	Coatí, tejón			+	115
<i>Nectomys squamipes</i>	Rata nadadora, quinas		+		77
<i>Oecomys bicolor</i>	Conejo doméstico	+			115
<i>Oryzotagus cuniculus</i> (b)	Rata arrocera			+	71
<i>Oryzomys caliginosus</i>	Rata arrocera		+		63, 64
<i>Oryzomys capita</i>	Rata arrocera	+			111

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

(b) Se encuentra en México

(c) Virus Mucambo

(d) Virus Fixuna

(e) Animal Centinela

CUADRO 2
(Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Oryzomys concolor</i>	Rata arrocera		+		77
<i>Oryzomys gosleri</i>	Rata arrocera	+(c)			123
<i>Oryzomys laticeps</i>	Rata arrocera	+(c)			47
<i>Oryzomys palustris</i> (b)	Rata arrocera		+		63
<i>Ovis sp.</i> (b)	Borrego, carnero		+		110
<i>Peromyscus gossypinus</i>	Ratón de campo		+		23
<i>Peromyscus maniculatus</i>	Ratón de patas blancas, ratón cuatralbo		+		126
<i>Peromyscus mexicanus</i> (b)	Ratón de campo		+		106
<i>Phliander opossum</i> (b)	Tlacuache cuatro ojos	+(c)			63, 106
<i>Pipistrellus subflavus</i> (b)	Murciélago de orejas largas			+	31
<i>Potos flavus</i> (b)	Mico de noche o Martucha micoleón			+	112, 115
<i>Proechimys guyanensis</i>	Rata espinosa	+(d)			123
<i>Proechimys semispinosus</i>	Rata espinosa	+			17, 63
<i>Procyon lotor</i> (b)	Mapache, oso lavador		+		106
<i>Rattus norvegicus</i> (b)	Rata doméstica parda o gris		+	+	17, 102

(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
(Continuación)

Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Rattus rattus</i> (b)	Rata doméstica negra		+		63, 77
<i>Reithrodontomys megalotis</i>	Ratón de campo		+		126
<i>Saguinus Geoffroyi</i>	Titis bigotudos		+		64
<i>Sciurus granatensis</i>	Ardilla arbórea		+		63
<i>Sciurus variegatoides</i> (b)	Ardilla arbórea		+		63
<i>Sigmodon hispidus</i> (b)	Rata cañera o algodonera		+		23, 89, 106
<i>Sus scrofa</i> (b)	Cerdo, puercu, chanchu, cochino		+		110
<i>Sylvilagus audubonii</i> (b)	Conejo del desierto		+		125
<i>Sylvilagus brasiliensis</i> (b)	Conejo castellano		-		106
<i>Sylvilagus natalii</i> (b)	Conejo de campo de Estados Unidos		+		125
<i>Tayassu tajacu</i> (b)	Puercu de monte, jabalí de collar			+	115
<i>Fulpes macrotis</i> (b)	Zorra norteña		+		125
<i>Zygodontomys brevicauda</i>	Ratón cañero de cola corta	+	+		47, 77

(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 de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Arremon taciturnus</i>	Gorrion		+(c)		85
<i>Bucco capensis</i>	Buco, muisá		+(c)		85
<i>Butorides striatus</i>	Garcita, chicuaco			+	115
<i>Butorides vittaceus</i> (b)	Garcita verduza	+			56, 63
<i>Campephilus (Phloeocastus)</i> <i>rubricollis</i>	Carpintero pescuecirrojo		+(c)		85
<i>Cardinalis (Richmondena)</i> <i>cardinalis</i> (b)	Cardenal común		+	+	79
<i>Ceryle Megaceryle alcyon</i> (b)	Pescador norteño o migratorio		+		79
<i>Chloroceryle inda</i>	Pescador selvático		+(c)		85
<i>Cochlearius cochlearius</i> (b)	Macaco del norte		+		45
<i>Columbia iria</i> (b)	Pichón doméstico			+	21
<i>Coragyps atratus</i> (b)	Zopilote común		+		63
<i>Corvus brachyrhynchos</i> (b)	Cuervo norteño		+		79
<i>Crotaphaga sulcirostris</i> (b)	Garrapatero ticás	+			56
<i>Crypturellus soui</i> (b)	Perdiz chica		+(c)		85

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

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

CUADRO 3
(Continuación)

Aves susceptibles Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Crypturellus strigulosus</i>	Chara norteamericana		+(c)		85
<i>Cyanocitta cristata</i>	Gusanero rabadilla amarilla	+	+		79
<i>Dendroica coronata</i> (b)	Pájaro gato del norte	+	+		79
<i>Dumetella carolinensis</i> (b)	Garzón blanco	+	+		63
<i>Egretta alba</i> (b)					45
<i>Eudocimus albus</i> (Guara alba) (b)	Ibis blanca	+	+		36, 79
<i>Florida caerulea</i> (b)	Garza chica parda	+			56
<i>Formicarius colma</i>	Hormiguera capirrojo		+(c)		85
<i>Gallus gallus</i> (b)	Gallina doméstica	+	+	+	115
<i>Hirundo rustica erythrogastris</i>	Golondrina tijerilla	+			67
<i>Icterus chrysater</i> (b)	Calandria de Giraud	+	+		115
<i>Icterus prosthernelas</i> (b)	Calandria de Strickland				56
<i>Jacana jacana</i>	Gallito de laguna	+	+		102
<i>Leptotila plumbeiceps</i> (b)	Paloma suelera de cabeza gris	+	+		102
<i>Malocophila rufa</i>	Bolho de bigote	+	+(c)		85
<i>Manacus manacus</i>	Turquito, toledo	+	+		65

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

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

CUADRO 3
(Continuación)

Aves susceptibles Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Melospiza melodia</i> (b)	Gorrion cantor			+	21
<i>Myiozetetes grandensis</i>	Mosquero sudamericano	+			56
<i>Myiozetetes similis</i> (b)	Mosquero social o luisito	+			56
<i>Nyctanassa violacea</i> (b)	Garza nocturna tropical		+		79
<i>Nycticorax nycticorax</i> (b)	Pedrete gris, perro de agua		+		45
<i>Oreoscoptes montanus</i> (b)	Cuiltracoche menor		+		126
<i>Otus sp</i> (b)	Tecolotito		+		102
<i>Passer domesticus</i> (b)	Gorrion inglés			+	21
<i>Phaethornis superciliosus</i> (b)	Ermitaño grande	+			45
<i>Phlegopsis nigromaculata</i>	Manaquín de cabeza dorada		+(c)		85
<i>Pipra erythrocephala</i>	Tucán	+	+		65, 115
<i>Pteroglossus torquatus</i> (b)			+		63
<i>Pyrgilena leucoptera</i>			+(c)		85
<i>Quiscalus quiscula</i>	Zanate norteamericano		+		79
<i>Ramphastos sulfuratus</i> (b)	Tucán de cuello amarillo	+			56
<i>Ramphastos swainsonii</i>	Tucán de Swainson		+		63
<i>Ramphocelus passerinii</i> (b)	Calandria de rabadilla escarlata	+			56

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

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Fixuna

CUADRO 3
(Continuación)

Aves susceptibles Género y especie	Nombre común	Tipo de estudio (a)			Referencias
		A	S	EL	
<i>Salpator maximus</i> (b)	Picogordo brineón		+(c)		85
<i>Selenidera maculirostris</i>	Tucancito		+(c)		85
<i>Sporophila nigricollis</i>			+		102
<i>Turdus fumigatus</i>	Primavera o mirlo		+(c)		85
<i>Turdus grayi</i> (b)	Primavera tropical o café	+	+		56
<i>Volatinia jacarina</i> (b)	Marinerito, loquito		+		45
<i>Xiphorhynchus flavigaster</i> (b)	Trepatroncos arañero fiador		+		45
<i>Xiphorhynchus guttatus</i>			+(c)		85
<i>Xiphorhynchus lechrymosus</i>			+		65
<i>Zenaidura macroura</i> (b)	Huileta coluda, tortola coluda			+	21
<i>Zonotrichia albicollis</i> (b)	Corrión de garganta blanca			+	21
Reptiles susceptibles					
<i>Caiman fuscus</i> (b)	Caimán		+		63
<i>Iguana iguana</i> (b)	Iguana		+		63

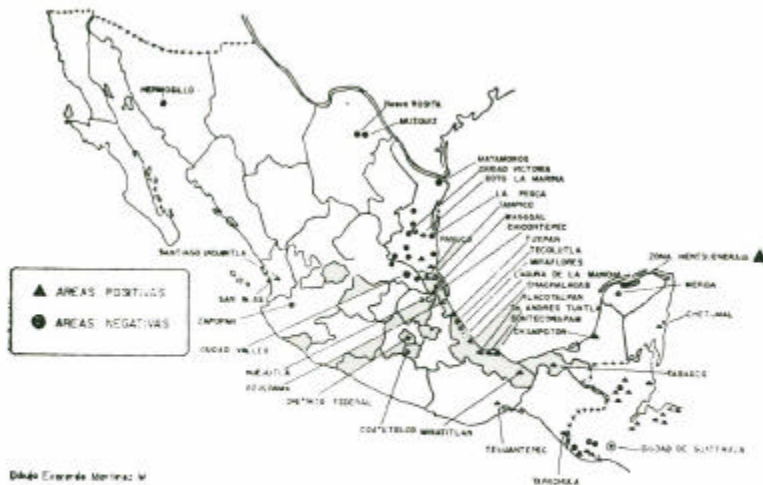
(a) A = Aislamiento; S = Serología; EL = Estudio de Laboratorio

(b) Se encuentra en México

(c) Anticuerpos contra el virus Mucambo o Pixuna

Veracruz (103). 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 IE (59).

En el año de 1965 murió un individuo en Jáltipan, Veracruz, probablemente debido a EEV (143). En 1966 se presentó una epizootia de EEV en las cercanías de Tampico, Tamaulipas, en la que enfermaron aproximadamente 1 000 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



Referencias: 29, 37, 39, 40, 43, 44, 103, 104, 107.

FIG. 2. Muestreo serológico y virológico de Encefalitis Equina Venezolana en la República Mexicana y Guatemala durante el periodo de 1961 a junio de 1969.

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 enzootica. A este respecto, los lugareños informaron que en los últimos 20 años habían observado ocasionalmente caballos que morían con

CUADRO 4

ORDEN CRONOLOGICO EN QUE APARECIERON LOS BROTES DE EEV EN LA REPÚBLICA MEXICANA, SEGÚN RETA (99). RETA Y SANZ (100), CORREA (28) Y BORUNDA Y COL. (9)

<i>Año</i>	<i>Fecha</i>	<i>Lugar</i>	<i>Estado</i>
1969-1970	Agosto-febrero	Municipio de Chicomuselo, La Con cordia, Socoltenango, Frontera Camalapa y Trinitaria. Tuxtla Gutiérrez, Ocozocuaula, Márgenes del Río Grijalva y Cintalapa	Chiapas
1970	Marzo	Poblados en la carretera hacia el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca	Oaxaca
	Abril-Mayo	No hubo casos	
	Junio	Cuenca del Río Grijalva	
	Agosto	Tepanatepec, Chahuites, San Mateo del Mar, Zanatepec, Reforma, Ixhuatán, Niltepec, Juchitán y Costa de Oaxaca	Chiapas Oaxaca
	Mediados de Septiembre		Veracruz
	Octubre		
	15 Octubre	Oeste de la costa de Oaxaca	Oaxaca
		Acapulco y alrededores de la laguna de Tres Palos Medellín, Actopan Desembocadura del Río Balsas,	Guerrero
	21 Octubre		Vera cruz
1970	Diciembre	Melchor Ocampo	Guerrero y Michoacán
		Espinal	Veracruz
1971	10 Enero	Ixhuatlán de Madero Las	Veracruz
	15 Marzo	Tablas, Río Verde	Veracruz
	Principios de Mayo		San Luis Potosí
	5 Junio	Tuxpan y alrededores de la Laguna de Tamiahua	Veracruz
	8 Junio	Soto La Marina	Tamaulipas
	16 Junio	El Progreso y San Antonio, Municipio de Candela	Coahuila
	Mediados de Junio	Frontera con México	Texas, Estados Unidos Texas, Estados Unidos
	23 Junio	Condado de Live Oak	Nuevo León
	Finales de Junio	Oeste del Estado	
	10 Julio	Jalpan	Querétaro
	23 Julio	Fresnillo	Zacatecas

CUADRO 4
(Continuación)

<i>Año</i>	<i>Fecha</i>	<i>Lugar</i>	<i>Estado</i>
	2 Agosto	San Felipe y Cuerámaro	Guanajuato
	10 Agosto	Rincón de Romos	Aguascalientes
	12 Agosto	Maravatío y Vista Hermosa	Michoacán
	15 Agosto	El Capadero, Munpo. de San Juan de Guadalupe	Durango
	16 Agosto	Tepatitlán	Jalisco
	19 Agosto	Tepic	Nayarit
	24 Agosto	Elota	Sinaloa
1972	26 Agosto	Cd. Camargo	Chihuahua
	16 Enero	Coyuca de Catalán	Guerrero
	18 Febrero	Huetamo, San Lucas y Tiquicheo	Michoacán
	23 Abril	Tula	Hidalgo
	6 Mayo	Iguala	Guerrero
	6 Mayo	Atotonilco y Mineral del Chico	Hidalgo
	6 Mayo	Rodeo y San Juan del Río	Durango
	16 Mayo	Huejuquilla y Bolaños	Jalisco
	10 Junio	Monte Escobedo y Valparaíso	Zacatecas
	16 Junio	Apatzingán	Michoacán
	16 Junio	San Blas	Nayarit
	19 Junio	Zacatepec	Morelos
	5 Julio	Ixcamilpa de Guerrero, Izúcar de Matamoros	Puebla
	14 Julio	Tatlaya, Amatepec y Tejupilco	Estado de México
	14 Julio	Tomatlán	Jalisco
	4 Agosto	Navojoa, Alamos y Huatabampo	Sonora
	19 Septiembre	Islas Marías	Nayarit

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 (89).

En el verano de 1969, apareció la EEV en animales que se encontraban en la frontera entre Guatemala y El Salvador (Fig. 3). En esa ocasión, el virus fue clasificado como subtipo IB 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 IE (104).

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 (25). Oficialmente la enfermedad se presentó por primera vez en el municipio de Chicomusuelo, Chiapas, y a partir de este brote el virus continuó



Las fechas fueron tomadas de las siguientes referencias: 9, 28, 99, 100.

FIG. 3. Cronología de la epizootemia de Encefalitis Equina Venezolana ocurrida de 1969 a 1972 y su relación con algunas cuencas de ríos de la República Mexicana.

hacia el norte de México. El subtipo del virus correspondió al IB o epizootémico (30). En el cuadro 4 se presenta el orden cronológico en que aparecieron los brotes en la República Mexicana según Reta (99), Reta y Sanz (100), Correa (28) y Borunda *et al.* (9).

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 mo-

vimiento 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 (50). El movimiento del brote fue siempre 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 un área, 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 tenía anticuerpos IH (4). Por lo que toca a los cordones de vacunación, éstos no impidieron que la enfermedad se diseminara; quizás esto 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 Fig. 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 es posible seguir cronológicamente las fechas de los brotes sobre el curso del río. El movimiento del virus fue de las montañas hacia la costa (no 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 de 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 tren, automóviles, camiones o el avión. A este respecto, se ha sospechado que los vehículos pueden llevar 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. En esa ocasión, los equinos que enfermaron se encontraban en los alrededores del aeropuerto sugiriendo que el avión fue capaz de transportar mosquitos infectados (109).

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.

Poco después de que la epizootemia había pasado en los Estados de Durango, Chihuahua y Tamaulipas, en junio y julio de 1972, Sudia y col. realizaron estudios sobre el virus. Se efectuaron 2 aislamientos de la variante epizootemia del virus (IB) 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 de tiempo (119).

Para prevenir la EEV en el país, se ha seguido una campaña anual de vacunación de los equinos; ésta ha dado buenos resultados ya que desde octubre de 1972 hasta marzo de 1975 no se han presentado casos de la enfermedad. Por otra parte, a finales de 1974 y principios de 1975, se presentó un brote de probable EEV en Guatemala, en un área relativamente cercana a la frontera con México (109). Este hallazgo es una indicación de que la actividad viral continúa y es una advertencia de que es necesario continuar con la vacunación y con una vigilancia estrecha para prevenir la EEV en la República Mexicana.

AGRADECIMIENTOS: El autor agradece a la Dra. María Luisa Zárate por la revisión y crítica hecha al manuscrito, así como al Dr. Bernardo Villa y Dr. Allan Phillips por la revisión de los cuadros de mamíferos y aves respectivamente.

ADDENDUM

Otros mosquitos que se han encontrado infectados naturalmente con el virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) son: *Aedes trivittatus*, *Culex peus* (144) y *Trichoprosopon digitatus* (145). En forma experimental se ha logrado infectar *Aedes atropalpus* (146). Recientemente Bautista *et al.* (147) lograron infectar a través de ratones lactantes virémicos y por vía intratorácica a mosquitos *Ano-*

pheles albimanus y *Culex thriambus* respectivamente con la cepa TC-83 del virus de la EEV; en este experimento, *An. albimanus* fue capaz de transmitir el virus por picadura al ratón lactante.

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 Venezuelan 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 infection; (1953-1963). *J. Med. Entomol.*, 6: 207-215, 1969.
3. Baquerizo, A. L. y Marmol, 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. Ecuador. Hig. Med. Trop.*, 15: 163-176, 1958.
4. Batalla-Campero, D. Comunicación personal.
5. Batalla, D., Mercado, S., Gutiérrez, 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.
6. Bautista-Garfias, C. R. Comunicación personal.
7. Beck, C. E. and Wyckoff, R. W. Venezuelan Equine Encephalomyelitis. *Science*, 88: 530, 1938.
8. 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.
9. Borunda-Falcón, O., Campos, J. M., Lefranc, C., Contreras, M. E., Villegas, A. R., Escolto, R., 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 Nacional de Salud*, 16 al 20 de julio de 1973. México, D. F.
10. 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.
11. 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 Asistencia Social*, 29: 432-437, 1964.
12. Briceño-Rossi, A. L. Rural epidemic encephalitis in Venezuela caused by a Group A arbovirus. *Prgr. Med. Virol.*, 9: 176-203, 1967.
13. Buckley, S. M. and Clarke. D. H. Differentiation of Group A ar-

- Bovirus Chikungunya, Mayaro and Semliki Forest by the fluorescent antibody technique. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 135: 533-539, 1970.
14. Bykovsky, A. F., Yershov, F. I., and Zhdanov, V. M. Morphogenesis of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J. Viro.*, 4: 496-504, 1969.
 15. Calisher, C. H. and Maness, K. S. C. Arbovirus identification by an agar gel diffusion technique. *Appl. Microbiol.*, 19: 557-564, 1970.
 16. 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.
 17. 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.
 18. Center for Disease Control. *Morbidity and Mortality.*, 22: 126-131, 1973.
 19. Chamberlain, R. W. Anophelines as arbovirus vectors. *Anal. Microbiol. Univ., Brasil*, 11: 89-93, 1963.
 20. 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.
 21. 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, 1956.
 22. 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, 1956.
 23. Chamberlain, R. W., Sudia, W. D., Coleman, P. H., and Work, T. H. Venezuelan equine encephalitis virus from south Florida. *Science*, 14:5: 272-274, 1964.
 24. 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.
 25. Chávez, C., Pinzón, J., Jara, B. y Morilla, A. *Informe de trabajo presentado al Dr. Gustavo Reta el 18 de julio de 1969*.
 26. 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.
 27. Communicable Disease Center: *Zoonoses Surveillance*. Venezuelan Equine Encephalitis VEE Summary, 1: 1, 1972.
 28. Correa-Girón, P. *Encefalitis Equina de Venezuela*. Folleto publicado por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. SAG., México, 1972.
 29. Correa-Girón, P., Morilla-González, A. y De Mucha-Macías, J. Anticuerpos contra algunos arbovirus en murciélagos de Veracruz y San

- Luis Potosí. *Resúmenes de la Sexta Reunión Anual*. Diciembre 18-20, 1968. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarías, SAG., México.
30. 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.
 31. Corrigan, E. C., LaMotte, L. C. Jr., and Smith, D. G. Susceptibility of bats to certain encephalitis viruses. *Fed. Proc.*, 15: 584, 1956.
 32. Danes, L., Kufner, J., Hruskova, J., and Rychterova, 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: 50-55, 1973.
 33. Danes, L., Rychterova, V., Kliment, V., and Hruskova, J. Penetration of Venezuelan equine encephalomyelitis virus into the brain of guinea pigs and rabbits after intranasal infection. *Acta Virol*, 17: 138-146, 1973.
 34. 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.
 35. Davis, I. L. *A field guide to the birds of Mexico and Central America*. University of Texas Press, Austin and London, 1972.
 36. Davis, M. H., Hogge, A. L. Jr., Corrigan, 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.
 37. De Mucha-Macías, J. Infecciones por virus Arbor. *Gaceta Médica de México*, XCIII: 415-420, 1963.
 38. 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.
 39. 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.
 40. 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.
 41. Díaz-Nájera, A. Investigación entomológica realizada en áreas afectadas por la Encefalitis Equina Venezolana. *Rev. Invest. Salud Públ. (Méx.)* XXXI: 219-237, 1972.
 42. 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.
 43. 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.

44. Dickerman, R. W., Zárate, M. L., Scherer, W. F., and De MuchaMacías, J. Venezuelan encephalitis virus along the central and northern Gulfcoast of Mexico as of July-September 1969. *Bo. of Sanit. Panam.*, 71: 143-151, 1971.
45. 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 Mexico. VI. Infection in wild birds. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21: 66-78, 1972.
46. 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.
47. Downs, W. G., Wilbur, G., Spence, L., and Aitken, T. H. Studies on the virus of Venezuelan Equine Encephalomyelitis in Trinidad, W. I. III. Reisolation of virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11: 841-843, 1962.
48. 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.
49. Erickson, G. A., Mare, C. J., Pearson, J. E., and Carbrey, E. A. The goal as a sentinel for Venezuelan equine encephalomyelitis virus activity. *Am. J. Vet. Res.*, 35: 1536, 1974.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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.
56. 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.
57. Galindo, P., and Grayson, M. A. *Culex (Melanoconion) aikenii*: natural vector in Panamá of endemic Venezuelan encephalitis. *Science*, 172: 594-595, 1971.

58. Galindo, P., and Adams, A. J. Ecological profile of *Cu/ex (Melanoconion) aikenii* (Diptera: Culicidae) vector of endemic Venezuelan encephalitis in Panamá. *Environ. Entomol.*, 2: 81-86, 1973.
59. 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.
60. Gilyard, R. T. Mosquito transmission of Venezuelan virus equine encephalomyelitis in Trinidad. *Bull. U. S. Army Med. Dept.*, 1 No. 75: 96-107, 194-4.
61. 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.
62. 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.
63. Grayson, M. A., and Galindo, P. Epidemiologic studies of Venezuelan equine encephalitis virus in Almirante, Panamá. *Amer. J. Epidemiol.*, 88: 80-96, 1968.
64. Grayson, M. A., and Galindo, P. Ecology of Venezuelan equine encephalitis virus in Panamá. *J.A.V.M.A.*, 155: 2141-2145, 1969.
65. Groot, H. Estudios sobre virus transmitidos por artrópodos en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cien. Exac. Nat.*, 7:3-23, 1964.
66. 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.
67. Gutiérrez, E. V., Monath, T. P., Alava, A., Uriguen, D., Chamberlain, R. W., and Arzube, M. *Epidemiological investigations of the 1969 epidemic Venezuelan encephalitis in Ecuador*. Publicación del Instituto Nacional de Higiene Leopoldo Izquieta Pérez, Ministerio de Salud Pública, Ecuador.
68. Hammon, W. M., and Sather, G. E. Arboviruses. En, *Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases*. Ed. of E. H. Lennette and N. J. Schmidt., *American Public Health Association, Inc.*, New York, pp. 237-280, 1969.
69. Hardy, F. M. The growth of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in various tissue cultures. *Amer. J. Hyg.*, 70: 21-27, 1959.
70. Hawkes, R., and Marshall, I. Studies of arboviruses by agar-gel diffusion. *Am. J. Epidemiol.*, 86: 28-44, 1967.
71. Hearn, H. J. A variant of Venezuelan equine encephalomyelitis virus attenuated for mice and monkeys. *J. Immunol.*, 84: 626-629, 1960.
72. 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 .
73. Howard, A. T. Experimental infection and intracage transmission of Venezuelan equine encephalitis virus (subtype IB) among cotton rats

- Sigmodon hispidus* (Say and Ord). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 23: 1178-1184, 1974.
74. Howell, J. C. Populations and home ranges of small mammals on an overgrown field, *J. Mammol.*, 35: 177-186, 1954.
 75. 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.
 76. Jonkers, A. H., Spence, L., Downs, W. G., Aitken, T. H. G., and Tikasingh, E. S. Arbovirus studies in Bush forest, Trinidad, W.L, September 1959, December, 1964, 5. Virus isolations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17: 276-284, 1968.
 77. Jonkers, A. H., Spence, L., Downs, W. G., Aitken, T. B. G., and Worth, C. B. Arbovirus studies in Bush forest, Trinidad, W.L; September, 1959-december, 1964. 6. Rodent-associated viruses (VEE and agents of group e and Guamá): isolations and further studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17: 285-298, 1968.
 78. 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. 170-175, 1972.
 79. 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.
 80. Kissling, R. E., Chamberlain, R. W., Nelson, D. B., and Stam, D. D. Venezuelan Equine Encephalomyelitis in horses. *Am. J. Hyg.*, 63: 274-87, 1956.
 81. Kissling, R. E., and Chamberlain, R. W. Venezuelan Equine Encephalitis. *Adv. Vet. Sci.*, 11: 65- 84, 1967.
 82. Koprowski, B., and Lennette, E. H. Pathogenesis of Venezuelan equine encephalomyelitis virus infections in the developing chick embryo. *J. Bacteriol.*, 48: 463-4i2, 1944.
 83. Kubes, V., and Ríos, F. A. The causative agent of infections equine encephalomyelitis in Venezuela. *Science*, 90: 20-21, 1939.
 84. Kubes, V. Venezuelan-type equine encephalomyelitis in Trinidad. *Science*, 99: 41-42, 1944.
 85. Lovejoy, T. En, *Proceedings of he workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D. C., September, 1971. (*Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243*), pp. 286-288, 1972,
 86. Lundgren, D. L., and Smart, K. L. Experimental infection of coyote pups with Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 18: 268-272, 1969.
 87. Mackenzie, R. B. The role of silent vertebrate hosts in epidemics 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. 239-243, 1972.
88. 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.
 89. 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.
 90. 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.
 91. 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.
 92. Mussgay, M. Identification equine encephalitis viruses by simple plaque technique. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11: 291-293, 1962.
 93. 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.
 94. Mussgay, M., and Rott, R. Studies on the structure of a hemagglutinating component of a Group A arbovirus (Sindbis). *Virology*, 23: 573-581, 1964.
 95. Odum, E. P. An eleven-year history of a *Sigmodon* population. *J. Mammol.*, 36: 368-378, 1955.
 96. 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.
 97. Prias-Landínez, E., and Bernal-Cubides, C. *Comunicación personal a Arbovirus Information Exchange*. Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia.
 98. Randal, R., and Mills, J. W. Fatal encephalitis in man due to Venezuelan virus of equine encephalomyelitis in Trinidad. *Science*, 99: 225-226, 1944.
 99. Reta, G. Equine Disease: Mexico. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuela; encephalitis virus*. Washington, D. C., September, 1971 (Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243), pp. 209-213, 1972.
 100. Reta-Petterson, G. y Sanz-Bienobas, R. La Encefalitis Equina Venezolana como problema de salud pública en México. Trabajo presentado a la I Convención Nacional de Salud, 16 al 20 de julio de 1973. México, D. F.
 101. Robaud, E., Lcpine, P. Treillard, M. et Sauter, V. Infection experimental de culicides (Aedines) europeéens avec le virus de l'encephalomyelitis equine Americaine type Venezuela. *Bull. Soc. Pathol. Exotique*, 34: 130, 1941.

102. Sanmartin, C., Mackenzie, R. B., Trapido, H., Barreta, P., Mullenax, C. H., Gutiérrez, S. y Lesmes, C. Encefalitis Equina Venezolana en Colombia, 1967. *Bol. Of. San. Panam.*, 74: 108-137, 1973.
103. Scherer, W. F., Dickerman, R. W., Wong-Chia, C., Ventura, A., Moorhouse, A., Geiger, R., and Diaz-Nájera, A. Venezuelan equine encephalitis virus in Mexico and the use of hamsters as sentinels. *Science*, 145: 274-275, 1964.
104. 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 America and Mexico. *Amer. J. Trop. Med.*, 19: 703-711, 1970.
105. 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, 1971.
106. Scherer, W. F., Dickerman, R. W., La Fiandra, R. P., Wong-Chia, C., and Terrian, J. Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern, Mexico. IV. Infections of wild mammals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 20: 980-988, 1971.
107. Scherer, W. F., Campillo-Sainz, C., De Mucha-Macías, J., Dickerman, R. W., Wong-Chia, C., and Zarate, M. L. Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern, México. VII. Infection of man. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21: 79-85, 1972.
108. 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, 1972.
109. Schroeder, V. Sanidad Equina, SAG. México. Comunicación personal.
110. 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.
111. 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.
112. 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.
113. 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.
114. 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.
115. Stelman, C. et Santucci, J. Le complexe des encephalomyélites équine Venezueliennes. *Bull. Off. int. Epiz.*, 75: 1027-1097, 1971.
116. Sudia, W. D., and Newhouse, V. F. Venezuelan Equine Encephalitis in

- Texas, 1971. Informational reports. *Mosquito News*, 31: 350-351, 1971.
117. Sudia, W. D., Lord, R. D., Newhouse, V. F., Miller, D. L., and Kissling, R. E. Vector-host studies of a fan epizootic of Venezuelan Equine Encephalomyelitis in Guatemala, 1969. *Am. J. Epidemiol.*, 93: 137-143, 1971.
 118. 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. J. Epidemiol.*, 93: 206-211, 1971.
 119. Sudia, W. D., Fernández, Z. L., Newhouse, V. F., Sanz, n. 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.
 120. Suttor::, L. S., and Brook, C. e. *Venezuelan Equine Encephalomyelitis due to vaccination*. *J.A.V.M.A.*, 55: 1437-1476, 1954.
 121. 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. Hy.*, 14: 651-674, 1965.
 122. 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.
 123. 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, 1967.
 124. Theiler, M. Action of sodium desoxycholate on Arthropod-Borne viruses *Proc. Soc. Biol. Med.*, 96: 380-382, 1957.
 125. 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.
 126. 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.
 127. 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.
 128. Vilchis-Villaseñor, J. Human Disease: Mexico. 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.
 129. Villa, R. B., and Cokrum, E. L. Migration in the guano bat *Tadarida brasiliensis mexicana* (Saussure). *J. Mammol.*, 43: 43-64, 1962.
 130. Wachter, R. F., and Johnson, E. W. Lipid content of the equine encephalitis viruses. *Fed. Proc.*, 21: 461, 1962.
 131. Walton, T. E., and Johnson, K. M. Epizootiology of Venezuelan Equine Encephalomyelitis in the Americas. *J.A.V.M.A.*, 16: 1509-1515, 1972.

132. 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.
133. Wenger, F. Necrosis cerebral masiva del feto en casos de Encefalitis Equina Venezolana. *Invest. Clínica*, 21: 13-31, 1967.
134. Wildy, P. Classification and Nomenclature of Viruses. *Monographs in Virology*. Vol. 5. Editado por, J. L. Melnick. S. Karger, A. G., 1971.
135. 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.
136. 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.
137. Young, N. A. Serologic differentiation of viruses of the Venezuelan encephalitis (VE) complex. En, *Proceedings of the workshop-symposium on Venezuelan encephalitis virus*. Washington, D.C., September, 1971 (*Pan American Health Organization. Scientific Publication No. 243*), pp. 84-89, 1972.
138. 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, 1969.
139. 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, 1969.
140. 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.
141. Zárate, M. L. 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.
142. 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.
143. Zárate, M. L., Scherer, W. F. y Dickerman, R. W. Un caso probable de Encefalitis Equina Venezolana ocurrido en Jáltipan, Veracruz, México, 1965. *Salud Pública Mex.*, 13: 97-99, 1971.
144. Sudia, W. D., and Newhouse, V. F. Epidemic Venezuela n Equine Encephalitis in North America: A summary of virus-vector-host relationships. *Am. J. Epidemiol.*, 101: 1-13, 1975.
145. 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.
146. 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.

147. Bautista- Garfias, C. R.; Mercado - Sánchez , S. y Morilla- González, A. Infección experimental de los mosquitos *Anopheles albimanus* y *Culex thriambus* con el virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV), cepa TC83. En: Resúmenes de la XIII Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.G., 4-7 de mayo de 1976.