

ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN COLOMBIA, 1967¹

Carlos Sanmartín², Ronald B. Mackenzie³, Harold Trapido³,
Pablo Barreto², Charles H. Mullenax³, Ernesto Gutiérrez⁴ y Clara Lesmes²

A partir de agosto de 1967 se presentaron en Colombia varios brotes epizooticos de encefalitis equina venezolana. Se describen aquí los estudios adelantados en tres localidades del departamento del Valle del Cauca.

Introducción

La situación de la encefalitis equina venezolana (EEV) en Colombia hasta 1967 era la misma resumida por Sanmartín y Arbeláez (1). Después de preparar tal publicación se supo que en 1946 se había aislado un agente viral del cerebro de un caballo que sucumbió con síntomas de encefalitis en la zona rural de El Cerrito, a unos 40 km al norte de Cali (figura 1), durante el curso de una vasta epizootia que causó gran morbilidad y mortalidad de equinos en el valle del río Cauca⁵. Este virus, que facilitó el Dr. Reinaldo Caicedo, fue identificado por los autores como el de EEV. Siguiendo esta pista en febrero de 1965, en el ingenio Providencia —inmediaciones donde murió el caballo referido—, se sangraron 44 trabajadores que nunca habían estado fuera de la región; de ellos solamente cuatro que vivían en la zona en 1946 mostraron anticuerpos del virus venezolano en las pruebas de inhi-

bición de hemaglutinación (IH) y de neutralización (N).

Por la misma época, en Villarrica, comunidad a 40 km al sur de Cali, 60 personas, entre 7 y 15 años de edad, fueron negativas a EEV en la prueba de IH; solo una persona de 21 años que se sangró en este sitio mostró anticuerpos del virus. En noviembre de 1966 se supo que en Riopaila, ingenio azucarero del municipio de Zarzal, estaban muriendo equinos con síntomas encefalíticos. A pesar de tener antecedentes de mordeduras por perros presumiblemente rabiosos y de haberse confirmado en uno de ellos la etiología rábica, se sangraron 36 caballos entre 1 mes y 18 años de edad que resultaron negativos a EEV en la prueba de IH. Se estudió también el suero de 131 personas del mismo lugar cuyas edades eran de 5 a 50 años y solamente una, mayor de 30, mostró anticuerpos del virus venezolano. Los datos anteriores y las constantes averiguaciones de los autores coincidían en que desde 1946 no se había presentado en el valle del río Cauca encefalitis en los caballos y que las poblaciones equinas y humanas eran altamente susceptibles a EEV.

Las intensas y prolongadas lluvias de los últimos meses de 1966 en la parte alta del curso del río Cauca y de sus tributarios superiores, causaron en la semana final de ese año inundaciones en extensas zonas del departamento del Valle, creando condiciones que sugerían la posibilidad de que se presen-

¹ Esta investigación fue auspiciada por la Universidad del Valle, la Fundación Rockefeller y el Centro Internacional de Investigación y Adiestramiento Médico (ICMRT) de la Universidad de Tulane —Universidad del Valle, Donación TW-00143, del Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas, Institutos Nacionales de Salud, Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos.

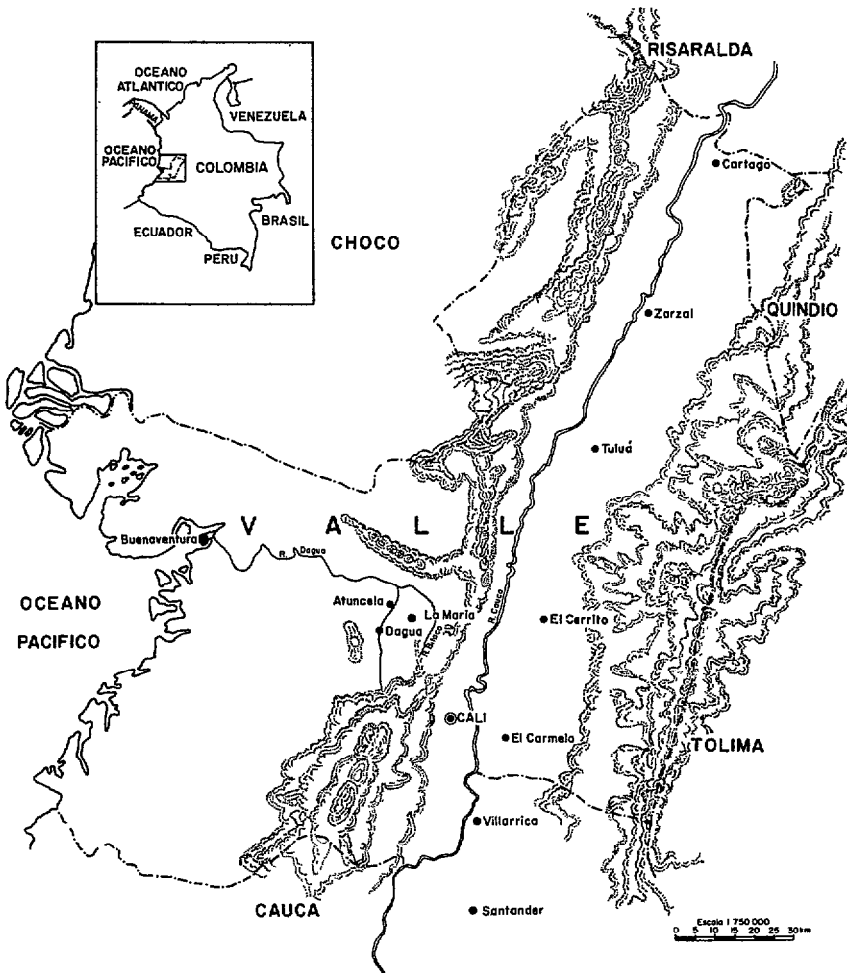
² Sección de Virus, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

³ Miembro de la Fundación Rockefeller.

⁴ Becario de la Organización Panamericana de la Salud, Instituto Nacional de Higiene "Leopoldo Izquieta Pérez", Guayaquil, Ecuador.

⁵ Dr. Francisco Virviescas, comunicación personal, 1964.

FIGURA 1—Ubicación de los lugares donde se realizó el estudio sobre la encefalitis equina venezolana, en 1967.



taran brotes de enfermedades transmitidas por mosquitos. Esta preocupación se comunicó al Servicio Seccional de Salud y se convocó una reunión el 5 de enero de 1967 en Tuluá para exponer tal inquietud a funcionarios de salud, médicos, veterinarios y ganaderos de la región. Se pidió a los asistentes que estuvieran alerta e informaran la posible aparición de encefalitis en caballos o el aumento en el número de casos febriles humanos, ya que se consideraba factible una epidemia de EEV.

No fue sino hasta el 23 de agosto de 1967, en plena estación seca, cuando se recibió

noticia del Dr. Elmer Escobar, veterinario del Servicio Seccional de Salud del Departamento del Valle, para informar que en El Carmelo, en la vecindad del aeropuerto internacional de Cali, a 18 km de la zona urbana de esa ciudad, estaban muriendo caballos con síntomas de encefalitis. Inmediatamente se iniciaron allí trabajos y cinco días más tarde se había identificado el virus de EEV en los aislamientos hechos de los sueros de un caballo y de un humano. Los estudios realizados en El Carmelo y en el valle del río Dagua constituyen el tema de este trabajo.

El Carmelo (1,000 m de altura) ocupa una zona de unos 5 km² caracterizada por numerosos ladrillares y tejares. Al pasar los años los trabajadores, al extraer la arcilla del suelo, han formado hoyos que se han llenado de agua en la cual ha crecido abundante vegetación, especialmente lechuga de agua (*Pistia stratiotes*), junco o enea (*Typha angustifolia*) y buchón o jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*). En estrecha relación con estas excavaciones están los ladrillares o tejares y las casas, casi todas de adobe o ladrillo, que tienen ventanas con postigos, pero sin tela metálica. La población de El Carmelo en 1967 era de 2,050 habitantes de los cuales la mitad tenía menos de 15 años. La zona urbana, $\frac{1}{4}$ de km², contaba con 1,250 personas; en casas dispersas en unos 5 km² de zona rural vivían las otras 800, estrechamente vinculadas a la elaboración de ladrillo y teja. El trabajo, casi todo diurno, estaba a cargo principalmente de los hombres mayores de 15 años; otras actividades, como el mantenimiento del fuego en los hornos, las cumplían durante toda la noche. Los habitantes urbanos también estaban relacionados en grado menor con la industria local. Para cargar y pisar la arcilla había una notable concentración de caballos que, en el sector rural y aun en el urbano, se guardaban durante la noche en los patios de las casas o en su inmediata vecindad. El Servicio de Erradicación de Malaria hizo el último rociado de DDT en 1962.

El 6 de septiembre, cuando se trabajaba en El Carmelo, se supo que estaban muriendo caballos con síntomas de encefalitis en la localidad de Atuncela, valle del río Dagua, en la vertiente del Pacífico de la Cordillera Occidental. En esta región de escasas lluvias, el valle del Dagua, a 700 m de altura, tiene aspecto desértico; sobre su ladera occidental, 200 m más arriba, está la meseta inclinada de Atuncela con unas 30 fincas muy pequeñas dedicadas especialmente al cultivo de caña de azúcar, yuca y

tomate. Había reducidas manchas de vegetación secundaria a cuya sombra se cultivaba el café. Se observó que toda el agua utilizada para el riego y consumo provenía de una corriente distribuida a cada finca por acequias pequeñas y no se encontró agua estancada en el suelo. Atuncela contaba con 39 casas donde vivían 289 personas cuya actividad principal era la agricultura y la fabricación de panela; para estas labores se utilizaba un buen número de caballos.

El 17 de octubre se supo que en la vertiente del valle del Dagua opuesta a Atuncela, se venían presentando en las últimas semanas muertes de caballos con síntomas de encefalitis y que la epizootia estaba activa en "La María", hacienda de varios miles de hectáreas situada entre los ríos Dagua y Bitaco. Esta hacienda, con alturas entre 1,400 y 1,500 m, estaba dedicada a la cría de caballos y bovinos. La región se caracterizaba por pastos raquíuticos en las laderas y las cimas de las colinas, donde pacían esos animales; también había unos cuantos arroyos de poco tamaño bordeados por bosquecillos en el fondo de las quebradas. La única casa dentro de la hacienda era la del mayordomo y su familia. Los caballos se encontraban muy dispersos y su número se calculó entre 160 y 200; casi siempre era el vuelo de los gallinazos sobre los animales muertos la única indicación de lo que estaba sucediendo. Las características del lugar y la manera como se presentaba la epizootia indicaron la conveniencia de incluir "La María" en estos estudios.

Materiales y métodos

Tanto en El Carmelo como en Atuncela se hicieron sendos censos de las poblaciones humana y equina.

Se intentó aislar virus de material de autopsia de caballos; con el mismo fin y para estudio de anticuerpos se sangraron equinos y humanos, tanto enfermos como convalecientes. También se examinó el suero de otros animales domésticos: bovinos,

cerdos, cabras, perros, conejos y aves de corral.

Los mamíferos pequeños se capturaron vivos con trampas plegables tipo "National", y las aves con redes de nilón. De unos y otras se obtuvieron suero sanguíneo y vísceras (corazón, bazo y riñón).

En El Carmelo, durante la epidemia, se expusieron 44 hamsters adultos luego de tomarles una muestra de sangre; varias semanas después se sangraron los sobrevivientes.

Para seguir en condiciones naturales el curso de la infección por virus venezolano, el 2 de septiembre a las seis de la tarde se introdujeron en El Carmelo cuatro caballos centinelas en plena actividad del brote; los animales venían de una zona libre de la enfermedad y sus sueros eran negativos a EEV para la prueba IH. Durante la observación se sangraban de mañana y de tarde.

El hallazgo de los casos humanos agudos dependió de los informes dados por ellos o por sus familiares, cuando acudían en busca de tratamiento o del encuentro de pacientes hecho por el personal que trabajaba en la investigación. El estudio serológico en El Carmelo, un año después de la epidemia, se basó en una muestra de 186 personas sangradas en 67 casas escogidas al azar.

En El Carmelo las capturas de mosquitos se hicieron al principio usando caballos, hamsters centinelas, humanos y trampas de luz tipo CDC (2). Luego se construyeron trampas-establo (3) que se emplearon con cebo equino durante la noche. Inicialmente los mosquitos se identificaban y congelaban tan pronto se obtenían, y para buscar el virus se estudiaban todos los de una misma especie y método de captura en un solo grupo: luego se les permitió digerir la sangre que pudieran contener, dejándolos de dos a cuatro días en frascos recubiertos interiormente con yeso húmedo, y se fijó un máximo de 25 ejemplares de cada especie por grupo para obtener datos cuantitativos sobre la frecuencia del virus en la población de insectos.

En Atuncela y La María los mosquitos y simúlidos se recolectaron de caballos, bovinos, cabras y humanos; también se usaron allí las trampas tipo CDC. En los *Simulium* se observó alta mortalidad al tratar de mantenerlos vivos para dar tiempo a la digestión de la sangre ingerida; se procuró obviar este problema capturándolos de caballos reconocidamente inmunes a EEV y congelándolos en seguida. Una vez identificados se formaron grupos de 50 ejemplares por especie; estos grupos, alternadamente, fueron procesados por el sistema ordinario de simple trituración en diluyente, o exprimidos entre papel de filtro, y lavados luego en solución salina fisiológica antes de suspenderlos para ser inoculados en busca de virus.

Todo el material recogido en el campo se transportaba debidamente refrigerado o en nieve carbónica al laboratorio, donde se mantenía en un congelador a -60°C hasta ser inoculado en busca de virus, o procesado serológicamente.

Para hacer las suspensiones de mosquitos, simúlidos, vísceras y las diluciones de los sueros se empleó como "diluyente" una solución salina fisiológica con tampón de fosfatos, pH 7.2, adicionada con 10% de suero fetal bovino, 500 unidades de penicilina y 0.0005 g de estreptomycin por ml. El volumen de diluyente empleado para suspender los mosquitos era de 1 ml para los 10 primeros y de 2 ml para cantidades de 11 hasta 300 ejemplares. En los *Simulium* se empleaba 1 ml hasta 50 especímenes; cuando se trataba de 1 a 4 se utilizaba 0.2 ml por cada uno. Para las vísceras se hacía una suspensión aproximada al 10% peso/volumen. Las suspensiones se centrifugaban a 8,000 G por 30 minutos a 4°C .

Los intentos de aislamiento de virus se hicieron inoculando intracerebralmente ratones blancos de 2 a 7 días de edad o tubos con monocapas de células Vero, para las cuales se empleaba el medio 199 con 5% y 2% de suero fetal bovino como medio de crecimiento y de mantenimiento respectiva-

mente. La selección de uno u otro método dependía del disponible en un momento dado; en algunos casos se usaron ambos simultáneamente, pero en otros las inoculaciones paralelas se hicieron con días, semanas y aun meses de diferencia. Cuando se comenzó a recibir un enorme número de muestras, se decidió repartir en una misma camada de ratones dos o tres inóculos, identificando los subgrupos por corte de la cola o de los dedos; los resultados equívocos, debidos a la posible contaminación entre ratoncitos de la misma camada, se aclararon siempre reinoculando separadamente cada muestra original en un grupo de ratones.

La identificación de los aislamientos se hizo por fijación de complemento (FC) utilizando antígenos crudos de cerebros de ratones moribundos y líquido ascítico de ratones inmunizados con cepa Trinidad Burro No. 1 de EEV, empleando dos unidades de complemento e incubación durante la noche a 4°C. El fluido de los cultivos de las células Vero que mostraban efecto citopatógeno se inoculó a ratones cuyos cerebros se probaban luego en FC. Para las pruebas de IH los sueros se trataron con acetona, utilizando antígenos extraídos con sacarosa-acetona (4) y micrométodos (5). Las pruebas de N se hicieron en células

Vero. La dilución inicial de los sueros fue 1:20 para IH y 1:4 para FC.

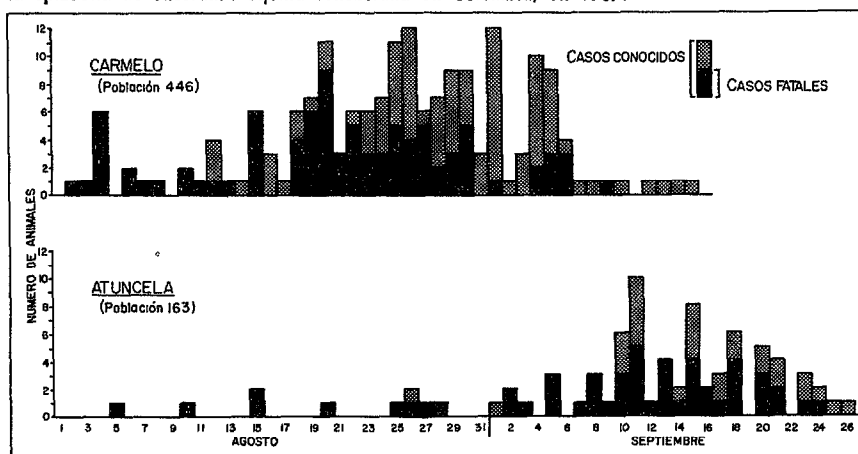
Resultados

El Carmelo

En El Carmelo, antes del brote que se inició el 2 de agosto, había 418 caballos de los cuales enfermaron 178 (43%) y murieron 90 (21%). Había también 28 mulas, 3 (11%) enfermaron, ninguna murió. La secuencia de los casos equinos conocidos se presenta en la figura 2. Al finalizar la primera semana de septiembre, de 44 caballos examinados, 39 (89%) mostraron anticuerpos en IH. Durante la epizootia entre caballos enfermos y contactos sanos se sangraron 70 animales y de 11 se aisló el virus.

En los cuatro caballos centinelas la viremia se inició después de 36 a 60 horas de haber entrado a la zona; 12 a 24 horas después de su comienzo se presentaron depresión, anorexia, congestión conjuntival y fiebre. Uno de los animales murió a los seis días de entrar a El Carmelo, después de tres días de fiebre y de mostrar viremia que aumentó progresivamente hasta llegar a 8.0 log al tiempo de morir. En los tres animales que sobrevivieron siete días o más, se observó incoordinación, arreflexia, trismus y secre-

FIGURA 2—Distribución de casos equinos, por día de iniciación de la enfermedad durante la epizootia de encefalitis equina venezolana en Colombia, en 1967.



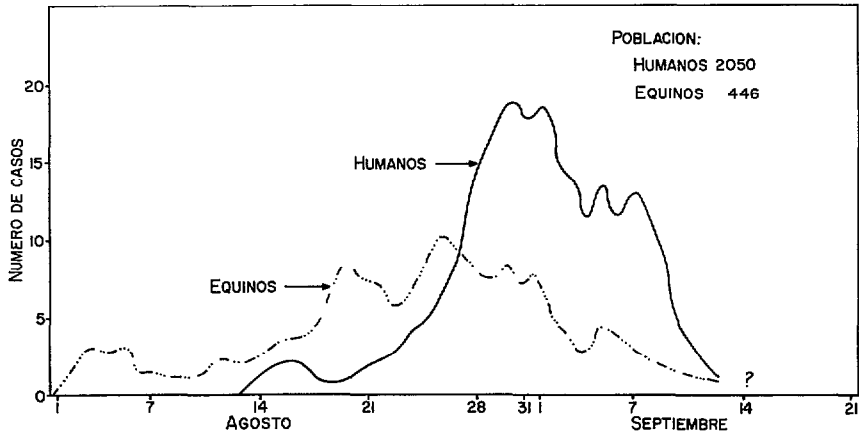
ción nasal mucopurulenta. Otro murió a los 11 días, cuatro días después de desaparecer la viremia que había durado dos. El tercer caballo presentó secuelas neurológicas graves de las que no se recuperó y murió cuatro meses más tarde. El último se recobró completamente. En los tres que sobrevivieron más de seis días los anticuerpos en IH aparecieron entre 114 y 170 horas después de entrar a la zona, 84 a 120 horas de la viremia inicial.

Los primeros casos humanos se presentaron unas dos semanas después de los casos equinos iniciales, siguiendo la curva epidémica a la epizootica tanto en la iniciación como en el ápex (figura 3).

En el suero de 269 enfermos febriles agudos se buscó virus y se pudo aislar este de 133 pacientes. De los 136 restantes fue posible sangrar 70 unos cuatro meses más tarde y de estos 38 (54%) mostraron cambios significativos en IH y FC. De las 186 personas sangradas un año después de la epidemia, 41 (22%) mostraron anticuerpos en IH; al probar 37 de estas en FC, se vio que 5 (14%) eran negativas y 4 de ellas con títulos relativamente bajos en IH (1:20 ó 1:40) correspondían a individuos de más de 27 años.

Las tasas de ataque clínico y la prevalencia de anticuerpos en humanos, distribuidas por edad, sexo y zona de residencia se presentan en el cuadro 1.

FIGURA 3—Incidencia diaria de casos en equinos y en humanos en El Carmelo, durante la epizootia de encefalitis equina venezolana en 1967.



CUADRO 1—Tasas de ataque clínico y prevalencia post-epidémica de anticuerpos IH para EEV en los habitantes de El Carmelo, según sexo, edad y zona de residencia.

Grupo etario (años)	Hombres		Mujeres	
	Tasa de ataque clínico (por 100 habitantes)	Prevalencia de anticuerpos (por 100 sueros)	Tasa de ataque clínico (por 100 habitantes)	Prevalencia de anticuerpos (por 100 sueros)
Zona urbana				
≤ 9	4	0 (19)	8	21 (34)
10-14	10	25 (4)	9	9 (11)
≥ 15	9	17 (12)	11	22 (41)
Zona rural				
≤ 9	8	27 (11)	8	33 (12)
10-14	6	0 (3)	11	50 (2)
≥ 15	24	55 (11)	11	27 (26)

Nota: Las cifras entre paréntesis indican el número de sueros probados.

Para examinar 307 sueros humanos obtenidos un año después de la epidemia se efectuaron pruebas simultáneas de IH con dos antígenos: el primero derivado de la cepa Trinidad Burro No. 1 y el otro preparado con el virus aislado durante el brote; en ambas pruebas, los anticuerpos tuvieron valores iguales en todos los casos y los resultados negativos también coincidieron.

Los resultados en IH de sueros de bovinos, cerdos, perros y aves de corral se dan en el cuadro 2. De 100 conejos domésticos que había en El Carmelo murieron 40 con signos de encefalitis y de uno que se estudió se aisló virus. De los 60 sobrevivientes se hizo prueba de IH a 10 y todos fueron negativos.

Los 44 hamsters centinelas eran todos negativos en IH antes de la exposición. Se aisló virus de dos que enfermaron y murieron; los otros 42 continuaron serológicamente negativos varias semanas después de haberlos retirado de la zona.

Durante dos semanas de la epizootia se recolectaron 130 sueros o vísceras de 13 especies diferentes de mamíferos: marsupiales, quirópteros, carnívoros y roedores. Se aisló virus de *Didelphis marsupialis*, *Caluromys derbianus*, *Artibeus lituratus*, *Rattus rattus* y *R. norvegicus*. Las pruebas de IH en estos animales mostraron anticuerpos en *Didelphis marsupialis* y en *Rattus norvegicus* (cuadro 3). En el mismo lapso

CUADRO 2—Pruebas IH en animales domésticos durante la epizootia de EEV en El Carmelo, en 1967.

Animales	Sueros examinados			Títulos (intervalo)
	No.	Positivos	Porcentaje	
Bovinos	50	29	58	20-320
Cerdos	11	7	64	160-640
Perros	10	7	70	160-1,280+
Aves de corral	21	3	14	40-160

CUADRO 3—Mamíferos procesados para el aislamiento de virus y pruebas IH, durante la epizootia de EEV, en El Carmelo, del 30 de agosto al 14 de septiembre de 1967.

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Mamíferos procesados	Positivos	Mamíferos procesados	Positivos
Marsupialia				
<i>Didelphis marsupialis</i>	31	6	24	2 (80-16) ^a
<i>Caluromys derbianus</i>	5	1	3	0
Chiroptera				
<i>Artibeus lituratus</i>	18	1	18	0
<i>Artibeus jamaicensis</i>	1	0	1	0
<i>Sturnira lilium</i>	1	0	1	0
<i>Phyllostomus discolor</i>	1	0	—	—
<i>Sp. identificar</i>	2	0	3	0
Carnivora				
<i>Mustela frenata</i>	2	0	—	—
Rodentia				
<i>Rattus rattus</i>	37	3	32	0
<i>Rattus norvegicus</i>	2	1	2	1 (40) ^a
<i>Rattus sp.</i>	2	0	2	0
<i>Mus musculus</i>	4	0	1	0
<i>Oryzomys caliginosus</i>	17	0	10	0
<i>Oryzomys alfaroi</i>	2	0	—	—
<i>Rhipidomys latimanus</i>	5	0	5	0
Total	130	12	102	3

^a Títulos.

se capturaron 113 aves, que representaban 21 familias y 35 especies (cuadro 4). Se aisló virus de un ejemplar de gallito de agua, *Jacana jacana* y de un buho, *Otus choliba*. En las pruebas de IH de 90 muestras, sólo hubo dos positivas (1:80 y 1:640), de nuevos ejemplares de *Jacana jacana*. También se capturaron seis lagartos, no identi-

cados, de los cuales no se aisló virus; cuatro de ellos que se probaron en IH no mostraron anticuerpos.

Durante las tres primeras semanas de trabajo, entre el 24 de agosto y el 13 de septiembre, en plena actividad epidémica, se hicieron 49 aislamientos de virus de 10 especies (o grupos de especies) de mosquitos

CUADRO 4—Aves procesadas para el aislamiento de virus y pruebas IH durante la epizootia de EEV en El Carmelo, del 30 de agosto al 8 de septiembre de 1967.

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Aves procesadas	Positivas	Aves procesadas	Positivas
Podicipedidae				
<i>Podiceps dominicus</i>	2	0	2	0
Ardeidae				
<i>Bubulcus ibis</i>	1	0	1	0
Rallidae				
<i>Gallinula chloropus</i>	3	0	3	0
Jacanídae				
<i>Jacana jacana</i>	8	1	6	2 (80-640) ^a
Scolopacidae				
<i>Actitis macularia</i>	3	0	2	0
<i>Tringa solitaria</i>	1	0	1	0
Columbidae				
<i>Columbigallina talpacoti</i>	7	0	6	0
<i>Columbigallina</i> sp.	4	0	2	0
<i>Leptotila plumbeiceps</i>	3	0	3	0
<i>Leptotila</i> sp.	2	0	2	0
Cuculidae				
<i>Crotophaga ani</i>	3	0	2	0
<i>Coccyzus pumilus</i>	2	0	1	0
<i>Coccyzus</i> sp.	1	0	2	0
Strigidae				
<i>Otus choliba</i>	2	1	2	0
Caprimulgidae				
<i>Chordeiles acutipennis</i>	1	0	—	—
Trochilidae				
<i>Glucis aenea</i>	1	0	1	0
Picidae				
<i>Chrysoptilus punctigula</i>	1	0	1	0
Furnariidae				
<i>Synallaxis albescens</i>	1	0	1	0
<i>Synallaxis brachiura</i>	1	0	—	—
Tyrannidae				
<i>Tyrannus melancholicus</i>	5	0	3	0
<i>Fluvicola pica</i>	3	0	2	0
<i>Pitangus sulphuratus</i>	6	0	6	0
<i>Elaenia flavogaster</i>	3	0	1	0
<i>Myiozetetes cayanensis</i>	5	0	4	0
<i>Todirostrum cinereum</i>	1	0	1	0
<i>Todirostrum</i> sp.	1	0	1	0
Sin identificar	4	0	—	—

CUADRO 4 (continuación)

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Aves procesadas	Positivas	Aves procesadas	Positivas
Troglodytidae				
<i>Troglodytes aedon</i>	2	0	2	0
Turdidae				
<i>Turdus ignobilis</i>	1	0	1	0
Parulidae				
<i>Geothlypis semiflava</i>	1	0	1	0
Coerebidae				
<i>Coereba flaveola</i>	2	0	2	0
Tersinidae				
<i>Ramphocelus dimidiatus</i>	1	0	1	0
Thraupidae				
<i>Thraupis virens</i>	6	0	6	0
Icteridae				
<i>Agelaius icterocephalus</i>	4	0	3	0
Fringillidae				
<i>Sporophila minuta</i>	5	0	5	0
<i>Sporophila nigricollis</i>	1	0	—	—
<i>Sporophila intermedia</i>	5	0	5	0
<i>Sporophila</i> sp.	5	0	4	0
<i>Saltator albicollis</i>	2	0	2	0
<i>Volatinia jacarina</i>	1	0	1	0
<i>Spinus psaltria</i>	1	0	1	0
Sin identificar	1	0	—	—
Total	113	2	90	2

^a Títulos.

(cuadro 5). El cuadro 6 muestra la composición específica y cuantitativa de los mosquitos capturados con diversos métodos. En los pozos descritos se encontraron formas inmaduras de *Culicidae* siendo las de *Mansonia* muy abundantes en las raíces de la vegetación acuática.

Atuncela

Cuando se visitó Atuncela el 6 de septiembre ya habían muerto, según los residentes, alrededor de 20 caballos en las tres semanas anteriores. Se sangraron tres caballos enfermos y de uno se aisló el virus. La población de caballos era de 148; enfermaron 80 (54%) y murieron 53 (36%); la secuencia de estos casos de Atuncela se presenta en la figura 2. No hubo enfermedad ni muerte en 15 mulas que había en la región.

Los primeros casos humanos se presentaron hacia el 16 de septiembre, llegando la curva epidémica a su máximo entre el 21 y el 28 del mismo mes, unos 7 a 10 días después del ápex de la epizootia. Del 18 de septiembre al 3 de octubre se sangraron 11 hombres y 2 mujeres con enfermedad febril aguda, y del suero de nueve hombres (tres niños y seis adultos) se aisló virus; no mostraron viremia cinco contactos asintomáticos. Del 21 al 28 de septiembre fue posible sangrar, en 24 casas seleccionadas al azar, 76 personas; los 14 sueros positivos en IH (18%) correspondieron a adultos, y los 62 restantes, que incluían 25 niños, fueron negativos tanto para virus como para anticuerpos. Cuatro meses después, en 18 casas elegidas al azar, se sangraron 43 personas: en 3 de 11 niños y en 13 de 32 adultos se encontraron anticuerpos en IH, o sea en

CUADRO 5—Mosquitos procesados y aislamientos de virus durante la epizootia de EEV en El Carmelo, en 1967.

	1ª semana Agosto 24-30		2ª semana Agosto 31-Sept. 6		3ª semana Sept. 7-13		Total 3 semanas	
	No. de mosquitos/ No. de grupos	Aisla- mien- tos	No. de mosquitos/ No. de grupos	Aisla- mien- tos	No. de mosquitos/ No. de grupos	Aisla- mien- tos	No. de mosquitos/ No. de grupos	Aisla- mien- tos
<i>Anopheles punctimacula</i>	18/4		16/7		10/4	1	44/15	1
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>			2/1		3/1		5/2	
<i>Wyeomyia scotinomus</i>	19/4		1/1				20/5	
<i>Mansonia indubitans</i>	1,249/17	2	1,733/65	10	1,716/81	13	4,698/163	25
<i>Mansonia titillans</i>	277/8	1	191/17	1	366/23	5	834/48	7
<i>Mansonia</i> spp.	184/2						184/2	
<i>Aedeomyia squamipennis</i>			7/1				7/1	
<i>Psorophora ferox</i>	29/8		27/9		4/3		60/20	
<i>Aedes angustivittatus</i>	47/8	1	12/6		3/3		62/17	1
<i>Aedes scapularis</i>	18/6		10/5		8/3		36/14	
<i>Culex (C.) corniger</i>			64/10		19/7	1	83/17	1
<i>Culex (C.) coronator</i>			61/9		19/6		80/15	
<i>Culex (C.) nigripalpus</i>			55/10		28/8		83/18	
<i>Culex (C.) quinquefasciatus</i>			100/12		47/13	1	147/25	1
<i>Culex (Mel.) aikenii</i>			222/19	2	233/14	5	455/33	7
<i>Culex (Mel.) erraticus</i>			182/15		143/11		325/26	
<i>Culex (Mel.)</i> sp. A			97/13		46/6	1	143/19	1
<i>Culex (Mel.)</i> spp.	111/4	2	107/6	2			218/10	4
<i>Culex</i> spp.	351/10	1	178/13		31/7		560/30	1
Total	2,303/71	7	3,065/219	15	2,676/190	27	8,044/480	49

CUADRO 6—Comparación de las especies de mosquitos capturadas por varios métodos durante la epizootia de EEV en El Carmelo, del 24 de agosto al 24 de noviembre de 1967.

Especie de mosquitos	No. de mosquitos capturados	Porcentaje por especie según tipo de cebo				
		Hombre	Caballo		Hamster	Luz
			directo	trampa		
Total	27,347	100 (608)	100 (7,068)	100 (18,835)	100 (569)	100 (357)
<i>Anopheles punctimacula</i>	293	—	.5	1.3	1.2	2.0
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	8	—	<.1	<.1	—	—
<i>Anopheles triannulatus</i>	1	—	<.1	—	—	—
<i>Wyeomyia scotinomus</i>	21	2.3	<.1	—	—	—
<i>Limatus</i> sp.	1	.1	—	—	—	—
<i>Mansonia indubitans</i>	11,353	27.7	60.9	33.8	73.1	23.5
<i>Mansonia titillans</i>	1,540	6.7	11.9	3.4	2.1	.3
<i>Mansonia</i> spp.	226	30.3	.6	—	—	—
<i>Uranotaenia</i> spp.	3	—	—	—	—	.8
<i>Aedeomyia squamipennis</i>	9	—	—	<.1	1.2	.3
<i>Psorophora ferox</i>	83	2.0	.9	<.1	—	—
<i>Aedes angustivittatus</i>	233	3.1	.8	.9	—	.3
<i>Aedes scapularis</i>	71	1.0	.4	.2	—	—
<i>Aedes serratus</i>	5	—	<.1	<.1	—	—
<i>Culex (C.) corniger</i>	124	—	1.0	.2	2.3	—
<i>Culex (C.) coronator</i>	341	2.3	1.1	1.3	1.1	.8
<i>Culex (C.) nigripalpus</i>	2,119	4.1	1.0	10.6	1.2	2.5
<i>Culex (C.) quinquefasciatus</i>	1,785	.5	1.2	8.6	6.6	8.1
<i>Culex (M.) aikenii</i>	2,178	4.3	5.4	9.0	.9	20.4
<i>Culex (M.) erraticus</i>	783	.5	4.1	2.4	.5	9.8
<i>Culex (Melanoconion)</i> sp.	257	—	1.7	.6	.9	5.3
<i>Culex (Melanoconion)</i> spp.	219	—	2.2	—	1.1	16.2
<i>Culex</i> spp.	5,784	15.0	6.1	27.5	7.7	9.5

Cifras en paréntesis: Número total de mosquitos en cada tipo de cebo.
— Cantidad cero.

37% del total. Los anticuerpos estaban igualmente distribuidos en ambos sexos.

Ya finalizando la epizootia se intentó hacer el aislamiento de virus en el suero de 14 bovinos y 16 cabras, con resultado negativo; las pruebas de IH en estos sueros mostraron anticuerpos en cuatro bovinos y en cuatro cabras con títulos entre 1:20 y 1:320.

Los cuadros 7 y 8 registran los otros vertebrados que se estudiaron en busca de virus y anticuerpos; no se aisló virus en 93 mamíferos, 3 reptiles y 201 aves. La prueba de IH fue negativa en 53 mamíferos y 2

reptiles, pero fue positiva en 2 de las 4 aves examinadas.

Se observó que durante el día los caballos eran picados por gran número de simúlidos y por muy escasos mosquitos. Al anochecer cesaba la actividad de unos y otros. Aunque no existía registro de lluvias se supo que no había llovido en los dos últimos meses. Antes de las lluvias, que comenzaron el 27 de septiembre, las trampas de luz produjeron en 10 trampas-noche 7 mosquitos, de los cuales dos eran de hábitos nocturnos: *Anopheles pseudopunctipennis* y *Culex* sp.

CUADRO 7—Mamíferos y reptiles procesados para aislamiento de virus y pruebas IH durante la epizootia de EEV en Atuncela, del 17 de septiembre al 3 de octubre de 1967.

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Mamíferos y reptiles procesados	Positivos	Mamíferos y reptiles procesados	Positivos
Mammalia				
Marsupialia				
<i>Didelphis marsupialis</i>	13	0	13	0
<i>Marmosa murina</i>	2	0	2	0
Chiroptera				
<i>Artibeus lituratus</i>	18	0	—	—
<i>Artibeus harti</i>	1	0	—	—
<i>Artibeus jamaicensis</i>	4	0	—	—
<i>Carollia subrufa</i>	3	0	—	—
<i>Carollia castanea</i>	1	0	—	—
<i>Chiroderma villosum</i>	1	0	—	—
<i>Glossophaga soricina</i>	1	0	—	—
<i>Phyllostomus discolor</i>	1	0	—	—
<i>Phyllostomus hastatus</i>	1	0	—	—
<i>Sturnira lilium</i>	1	0	—	—
<i>Diaemus youngi</i>	1	0	—	—
Sin identificar	2	0	—	—
Carnivora				
<i>Dusicyon thous</i>	1	0	1	0
Rodentia				
<i>Rattus rattus</i>	8	0	8	0
<i>Rattus</i> sp.	1	0	—	—
<i>Mus musculus</i>	3	0	1	0
<i>Oryzomys caliginosus</i>	20	0	18	0
<i>Oryzomys alfaroi</i>	9	0	9	0
<i>Zygodontomys brevicauda</i>	1	0	1	0
Total de mamíferos	93	0	53	0
Reptilia				
Iguana	1	0	1	0
Lagarto	2	0	1	0
Total de reptiles	3	0	2	0

Posteriormente, el número de zancudos aumentó y se obtuvieron en 8 trampas-noche 109 ejemplares de los cuales 78 correspondían a mosquitos de hábitos diurnos (*Aedes sexlineatus*, 76; *Aedes angustivittatus*, 1 y *Anopheles eiseni*, 1) y los demás

eran especies nocturnas (*Anopheles pseudo-punctipennis* y *Culex quinquefasciatus*). En la vegetación de las pequeñas corrientes se encontraron abundantes larvas y pupas de *Simulium* y formas inmaduras de mosquitos en las bromelias arbóreas.

CUADRO 8—Aves procesadas para el aislamiento de virus y pruebas IH durante la epizootia en Atuncela del 18 al 30 de septiembre de 1967.

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Aves procesadas	Positivas	Aves procesadas	Positivas
Columbidae				
<i>Columbigallina passerina</i>	27	0	1	0
<i>Columbigallina talpacoti</i>	35	0	—	—
<i>Leptotila plumbeiceps</i>	4	0	1	1 ^a
<i>Leptotila verreauxi</i>	2	0	—	—
<i>Zenaida auriculata</i>	1	0	—	—
Psittacidae				
<i>Forpus conspicillatus</i>	10	0	—	—
Strigidae				
<i>Otus choliba</i>	2	0	—	—
Caprimulgidae				
<i>Caprimulgus cayenensis</i>	2	0	—	—
Trochilidae				
Sin identificar	1	0	—	—
Formicariidae				
<i>Taraba major</i>	1	0	—	—
<i>Thamnophilus multistriatus</i>	1	0	—	—
<i>Thamnophilus</i> sp.	1	0	—	—
Tyrannidae				
<i>Elaenia flavogaster</i>	2	0	—	—
<i>Pipromorpha oleaginea</i>	1	0	—	—
<i>Pyrocephalus rubinus</i>	3	0	—	—
<i>Todyrostrum sylvia</i>	0	2	—	—
Hirundinidae				
<i>Stelgidopteryx</i> sp.	1	0	—	—
Troglodytidae				
<i>Henicorhina</i> sp.	1	0	—	—
<i>Troglodytes aedon</i>	5	0	—	—
Mimidae				
<i>Mimus gilvus</i>	1	0	—	—
Turdidae				
<i>Turdus ignobilis</i>	4	0	—	—
Sin identificar	1	0	—	—
Vireonidae				
<i>Vireo olivaceus</i>	1	0	—	—
Thraupidae				
<i>Ramphocelus dimidiatus</i>	1	0	—	—
<i>Ramphocelus flammigerous</i>	1	0	—	—
<i>Thraupis virens</i>	3	0	—	—
Icteridae				
<i>Molothrus bonariensis</i>	8	0	—	—

CUADRO 8 (continuación)

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Aves procesadas	Positivas	Aves procesadas	Positivas
Fringillidae				
<i>Cyanocopsa cyanoidea</i>	3	0	—	—
<i>Cyanocopsa cyanea</i>	3	0	—	—
<i>Saltator albicollis</i>	21	0	—	—
<i>Spinus psaltria</i>	3	0	—	—
<i>Sporophila intermedia</i>	11	0	—	—
<i>Sporophila nigricollis</i>	26	0	2	1 ^b
<i>Sporophila sp.</i>	2	0	—	—
<i>Tiaris olivacea</i>	4	0	—	—
<i>Volatinia jacarina</i>	1	0	—	—
<i>Zonotrichia capensis</i>	5	0	—	—
Total	201	0	4	2

^a Título IH 1:320.^b Título IH 1:80.

El cuadro 9 muestra las especies de *Simulium* que se obtuvieron mientras picaban a caballos, bovinos, cabras y humanos; *S. exiguum* y *S. metallicum* fueron las más abundantes. Los datos comparativos de las capturas simultáneas de simúlidos que se hicieron sobre caballos y humanos, en diferentes situaciones, se encuentran en los cuadros 10 y 11. El cuadro 12 informa

tanto los 11 aislamientos obtenidos de cada una de las cinco especies de *Simulium* como los ocho aislamientos hechos de mosquitos. El cuadro 13 muestra que siete de los ocho aislamientos logrados en mosquitos provenían de grupos que no se mantuvieron vivos para permitirles digerir la sangre; también se ve que hubo 32 grupos negativos en las mismas capturas.

CUADRO 9—Composición porcentual de especies de *Simulium* colectadas sobre hombre, caballo, bovino y cabra durante la epizootia de EEV en Atuncela, en 1967.

Especie de mosquitos	Porcentaje por especie según tipo de cebo			
	Hombre 100 (434)	Caballo 100 (25,647)	Bovino 100 (2,386)	Cabra 100 (31)
<i>Simulium exiguum</i>	38.0	45.4	59.7	32.3
<i>S. metallicum</i>	51.8	50.8	37.5	67.8
<i>S. callidum</i>	9.9	2.2	1.0	0.0
<i>S. mexicanum</i>	0.2	1.2	1.6	0.0
<i>S. paynei</i>	0.0	0.5	0.2	0.0

Cifras en paréntesis: Número total de mosquitos en cada cebo.

CUADRO 10—Comparación de cifras de especies de *Simulium* capturadas sobre caballo y hombre en tres ensayos durante la epizootia de EEV en Atuncela, en 1967.

Número de especies de <i>Simulium</i> capturadas	Porcentaje por especie según tipo de cebo		
	Total 100 (1,298)	100 (817)	100 (549)
	Ensayos		
Situación	No. 1	No. 2	No. 3
Caballo en campo abierto	93.9	92.2	89.3
Hombre { en campo abierto	6.1	5.1	5.5
{ en el pórtico	NE	2.8	5.0
{ dentro de la casa	NE	NE	0.2

NE: No efectuados.

CUADRO 11—Composición de especies de *Simulium* capturadas sobre caballo y hombre en tres ensayos realizados durante la epizootia de EEV en Atuncela, en 1967.

Especie de mosquitos	No. de mosquitos capturados	Porcentaje por especie según tipo de cebo	
		Hombre	Caballo
Total	2,664	100 (351)	100 (2,313)
<i>Simulium exiguum</i>	1,024	36.2	38.8
<i>S. metallicum</i>	1,563	53.6	59.4
<i>S. callidum</i>	67	10.3	1.3
<i>S. mexicanum</i>	9	0.0	0.4
<i>S. paynei</i>	1	0.0	0.1

Cifra en paréntesis: Número total de mosquitos en cada tipo de cebo.

CUADRO 12—Aislamiento de virus presentes en artrópodos durante la epizootia de EEV en Atuncela, en 1967.

Aislamientos de <i>Simulium</i>			
Fecha de captura	Especie	Tamaño del grupo	Cebo ^c
Sept. 14	<i>Simulium exiguum</i> ^a	50	Caballo
" 14	<i>S. exiguum</i> ^a	11	"
" 14	<i>S. metallicum</i> ^a	32	"
" 14	<i>S. callidum</i> ^a	26	"
" 15	<i>S. exiguum</i> ^a	50	"
" 15	<i>S. exiguum</i> ^a	50	"
" 15	<i>S. mexicanum</i> ^a	1	"
" 16	<i>S. paynei</i> ^b	1	"
" 18	<i>S. exiguum</i> ^{ab}	50	"
" 18	<i>S. exiguum</i> ^{ab}	50	"
" 18	<i>S. exiguum</i> ^{ab}	50	"
Aislamientos de mosquitos			
Sept. 21	<i>Aedes sexlineatus</i>	11	Caballo
" 23	<i>A. sexlineatus</i>	22	"
" 25	<i>A. sexlineatus</i>	13	"
" 25	<i>A. sexlineatus</i>	25	"
" 26	<i>A. angustivittatus</i>	2	Hombre
" 26	<i>A. sexlineatus</i>	25	"
" 26	<i>A. sexlineatus</i>	25	"
" 26	<i>Wyeomyia</i> spp.	16	"

^a Especímenes exprimidos y lavados para remover la sangre del huésped.

^b Mantenido vivos por 2 días.

^c Caballos inmunes a EEV.

CUADRO 13—Aislamiento de virus de grupos de mosquitos comparados con el número de grupos procesados en cada captura durante la epizootia de EEV en Atuncela, en 1967.

Fecha de captura	Días mantenidos vivos	Cebo	Mosquitos				
			Tamaño del grupo	No. por captura	Grupos procesados	Grupos positivos	Porcentaje de positivos
Sept. 21	2	Caballo	11-25	74	4	1	25.0
" 23	0	"	10-25	118	6	1	16.7
" 25	0	"	1-25	280	8	2	25.0
" 26	0	Hombre	2-15	29	6	1	16.7
" 26	0	"	1-25	157	10	3	30.0
Total				658	34	8 ^a	23.5

^a Aislamientos: *Aedes sexlineatus* 6; *Aedes angustivittatus* 1; *Wyeomyia* sp. 1.

El cuadro 14 ofrece la composición específica y cuantitativa de los artrópodos hematófagos capturados con distintos métodos.

La María

La epizootia aquí fue menos intensa y más prolongada que en El Carmelo y en Atuncela; las muertes de equinos fueron menos frecuentes y más espaciadas.

El virus se aisló del suero y del encéfalo de un caballo moribundo que fue sacrificado el 26 de octubre y del suero de 9 de 69 caballos aparentemente sanos.

Varios miembros de la familia del mayor-domo dijeron haber tenido "gripa" durante la epizootia; dos de los niños que estaban con fiebre el 15 de noviembre, fueron sanados; se comprobó la infección de EEV mediante el aislamiento del virus en uno de

ellos y conversión serológica en ambos. Los otros familiares del mayordomo, (ocho personas) no tuvieron anticuerpos para IH en muestras tomadas tres meses después.

Los mamíferos pequeños y las aves en los que se buscó virus se registran en el cuadro 15 y en el cuadro 16 respectivamente, donde también están los resultados de las pruebas de IH. No se aisló virus de ninguno de los 39 mamíferos ni de las 119 aves; tampoco hubo anticuerpos para IH en 31 mamíferos y 109 aves que se probaron.

Las capturas de artrópodos hematófagos se resumen en el cuadro 17. Las cifras relativas de las especies de *Simulium* que se capturaron sobre caballos, bovinos y humanos se presentan en el cuadro 18.

Los aislamientos de virus de los artrópodos hematófagos se incluyen en el cuadro

CUADRO 14—Composición específica de artrópodos hematófagos capturados con varios métodos, del 11 de septiembre al 23 de noviembre de 1967 en Atuncela.

Especie	Tipo de cebo					Total
	Humano	Caballo	Bovino	Cabra	Luz	
<i>Simulium exiguum</i>	165	11,646	1,425	10		13,246
<i>S. metallicum</i>	225	13,016	894	21	2	14,158
<i>S. callidum</i>	43	552	24			619
<i>S. mexicanum</i>	1	316	39			356
<i>S. paynei</i>		117	4			121
<i>Simulium</i> spp.		803	227			1,030
<i>Toxorhynchites</i> sp.	1					1
<i>Anopheles eiseni</i>		8			1	9
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>					3	3
<i>Anopheles</i> spp.					4	4
<i>Wyeomyia medioalbipes</i>	68	941	2			1,011
<i>Wyeomyia scotinomus</i>	7	152				159
<i>Wyeomyia</i> spp.	61	812				873
<i>Sabethes chloropterus</i>		2				2
<i>Psorophora cingulata</i>		1				1
<i>Psorophora ferox</i>	10	343				353
<i>Aedes angustivittatus</i>	5	63			2	70
<i>Aedes scapularis</i>	3	13				16
<i>Aedes sextilineatus</i>	86	1,464	6	1	80	1,637
<i>Aedes</i> spp.	1	7			4	12
<i>Culex quinquefasciatus</i>					11	11
<i>Culex</i> spp.		1			11	12
<i>Lutzomyia</i> spp. ^a		5	1		41	47
<i>Culicoides</i> spp.	4	7	3		392	406
<i>Stomoxys calcitrans</i>		22				22
Total	680	30,291	2,625	32	551	34,179

^a El nombre *Lutzomyia* reemplaza a *Phlebotomus*.

CUADRO 15—Mamíferos procesados para aislamiento de virus y pruebas IH en La María, del 31 de octubre al 16 de noviembre de 1967.

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Mamíferos procesados	Positivos	Mamíferos procesados	Positivos
Marsupialia				
<i>Didelphis marsupialis</i>	4	0	3	0
Chiroptera				
<i>Artibeus lituratus</i>	4	0	3	0
<i>Carollia perspicillata</i>	1	0	1	0
<i>Chiroderma villosum</i>	1	0	1	0
<i>Glossophaga soricina</i>	1	0	1	0
<i>Sturnira lilium</i>	2	0	1	0
Rodentia				
<i>Oryzomys caliginosus</i>	23	0	19	0
<i>Rhipidomys latimanus</i>	3	0	2	0
Total de mamíferos	39	0	31	0

CUADRO 16—Aves procesadas para el aislamiento de virus y pruebas IH en La María, del 1 al 7 de noviembre de 1967.

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Aves procesadas	Positivas	Aves procesadas	Positivas
Columbidae				
<i>Columbigallina passerina</i>	1	0	1	0
<i>Leptotila plumbeiceps</i>	1	0	1	0
Psittacidae				
<i>Forpus conspicillatus</i>	1	0	1	0
Strigidae				
<i>Otus choliba</i>	1	0	1	0
Caprimulgidae				
<i>Caprimulgus sp.</i>	1	0	1	0
Trochilidae				
Sin identificar	3	0	2	0
Picidae				
<i>Picumnus sp.</i>	1	0	1	0
Tyrannidae				
<i>Elaenia flavogaster</i>	10	0	9	0
<i>Myiophobus fasciatus</i>	3	0	3	0
<i>Pyrocephalus rubinus</i>	1	0	1	0
Sin identificar	2	0	1	0
Hirundinidae				
<i>Notiochelidon cyanooleuca</i>	3	0	3	0
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	1	0	1	0
Troglodytidae				
<i>Troglodytes aedon</i>	2	0	1	0
Turdidae				
<i>Catharus ustulatus</i>	3	0	1	0
<i>Tardus ignobilis</i>	21	0	21	0
<i>Tardus sp.</i>	2	0	2	0
Vireonidae				
<i>Vireo olivaceus</i>	2	0	2	0

CUADRO 16 (continuación)

	Aislamiento de virus		Pruebas IH	
	Aves procesadas	Positivas	Aves procesadas	Positivas
Parulidae				
<i>Oporornis philadelphiae</i>	1	0	1	0
Fringillidae				
<i>Cyanocompsa cyanoides</i>	2	0	2	0
<i>Pheucticus ludovicianus</i>	1	0	1	0
<i>Saltator albicollis</i>	6	0	5	0
<i>Spinus psaltria</i>	10	0	12	0
<i>Spinus</i> sp.	4	0	2	0
<i>Sporophila intermedia</i>	8	0	6	0
<i>Sporophila nigricollis</i>	3	0	3	0
<i>Sporophila</i> sp.	3	0	3	0
<i>Tiaris</i> sp.	1	0	1	0
<i>Zonotrichia capensis</i>	21	0	20	0
Total	119	0	109	0

CUADRO 17—Composición específica de artrópodos hematófagos colectados por métodos diferentes del 17 de octubre al 17 de noviembre de 1967 en La María.

Especie	Tipo de cebo				Total
	Hombre	Caballo	Bovino	Luz	
<i>Simulium exiguum</i>	5	1,921	2	3	1,931
<i>S. metallicum</i>	13	2,886	72		2,971
<i>S. callidum</i>	130	2,327	58		2,515
<i>S. mexicanum</i>		288	2	1	291
<i>S. paynei</i>		25			25
<i>Simulium</i> spp.		6			6
<i>Anopheles boliviensis</i>		3			3
<i>Wyeomyia medioalbipes</i>	3	6			9
<i>Wyeomyia scotinomus</i>	28	25		1	54
<i>Wyeomyia</i> spp.	2	34			36
<i>Psorophora cingulata</i>		2		10	12
<i>Aedes angustivittatus</i>		1		4	5
<i>Aedes scapularis</i>	1				1
<i>Aedes serratus</i>				2	2
<i>Aedes sexlineatus</i>	126	715	5	36	882
<i>Culex coronator</i>				8	8
<i>Culex quinquefasciatus</i>				12	12
<i>Culex</i> spp.				8	8
<i>Lutzomyia</i> spp. ^a				3	3
<i>Culicoides</i> spp.				96	96
<i>Stomoxys calcitrans</i>		1			1
Total	308	8,240	139	184	8,871

^a El nombre *Lutzomyia* reemplaza a *Phlebotomus*.

19. Hubo cuatro aislamientos de las tres especies más comunes de *Simulium* (*S. exiguum*, *S. metallicum* y *S. callidum*) y dos del mosquito más común, *Aedes sexlineatus*.

El cuadro 20 compara las capturas de simúlidos de Atuncela y de La María, en caballo y hombre.

Observaciones generales

El cuadro 21 informa las pruebas de IH y FC en el suero de 25 caballos enfermos o convalecientes de los cuales se conocía el tiempo de evolución de la enfermedad, cuyo número de días se basaba en los datos suministrados por los dueños; es posible que

CUADRO 18—Composición porcentual de especies de *Simulium* colectadas sobre hombre, caballo y bovino en La María durante la epizootia de EEV en 1967.

Especie de mosquitos	No. de mosquitos capturados	Porcentaje por especie según tipo de cebo		
		Hombre 100 (148)	Caballo 100 (7,447)	Bovino 100 (134)
Total	7,729			
<i>Simulium exiguum</i>		4.1	25.8	1.5
<i>S. metallicum</i>		8.1	38.8	53.7
<i>S. callidum</i>		87.8	31.2	43.3
<i>S. mexicanum</i>		0.0	3.9	1.5
<i>S. paynei</i>		0.0	0.3	0.0

Cifras en paréntesis: Número total de mosquitos en cada tipo de cebo.

CUADRO 19—Aislamientos de virus de artrópodos durante la epizootia de EEV en La María, en 1967.

Aislamientos de <i>Simulium</i>			
Fecha de captura	Especie	Tamaño del grupo	Cebo ^a
Nov. 1	<i>Simulium callidum</i> ^b	50	Caballo
" 1	<i>Simulium exiguum</i>	50	"
" 1	<i>Simulium metallicum</i>	50	"
" 2	<i>Simulium metallicum</i>	54	"
Aislamientos de mosquitos			
Nov. 3	<i>Aedes sexlineatus</i>	25	Hombre
" 4	<i>Aedes sexlineatus</i>	28	Caballo

^a Estado de inmunidad de los caballos, desconocido.

^b Especímenes exprimidos y lavados para remover la sangre del huésped.

CUADRO 20—Composición de las especies de *Simulium* que atacaban a caballos y a hombres durante el período de trabajo de campo en Atuncela y La María durante la epizootia de EEV en 1967.

Localidad	Atuncela		La María		
	Altura Período Huésped	700—900 m Sept. 11—Nov. 23 Caballo Hombre	1,400 m Oct. 17—Nov. 17 Caballo Hombre		
Total de <i>Simulium</i>		25,647	434	7,447	148
Especie	Porcentaje	Porcentaje	Porcentaje	Porcentaje	
<i>Simulium exiguum</i>	45.4	38.0	25.8	4.1	
<i>S. metallicum</i>	50.8	51.8	38.8	8.1	
<i>S. callidum</i>	1.2	9.9	31.2	87.8	
<i>S. mexicanum</i>	2.2	0.2	3.9	0.0	
<i>S. paynei</i>	0.5	0.0	0.3	0.0	

un examen cuidadoso hubiera descubierto manifestaciones clínicas antes de que el propietario se diese cuenta de la enfermedad de su animal. En todos estos sueros, con excepción del último, se intentó aislar virus; los resultados fueron negativos.

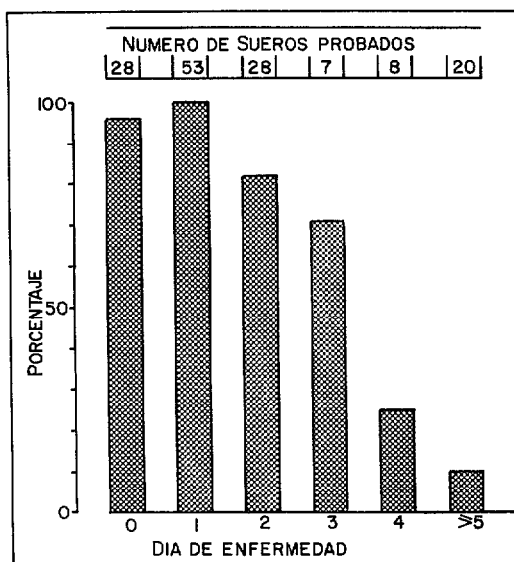
Durante los cuatro últimos meses de 1967 hubo encefalitis en caballos, burros y mulas y enfermedad febril en humanos con carac-

teres epidémicos, en el valle del alto Magdalena (departamentos de Tolima y Huila) y en la llanura del Atlántico (departamentos de Córdoba, Sucre, Bolívar y Atlántico). No fue posible hacer estudios detallados en estas zonas pero se realizaron viajes cortos a esos lugares, en compañía de veterinarios del Instituto Colombiano Agropecuario, para tratar de establecer la etiología de lo que allí

CUADRO 21—Pruebas serológicas en caballos con antígeno de EEV en relación con el tiempo de evolución de la enfermedad en El Carmelo, Atuncela, y la María durante la epizootia en 1967.

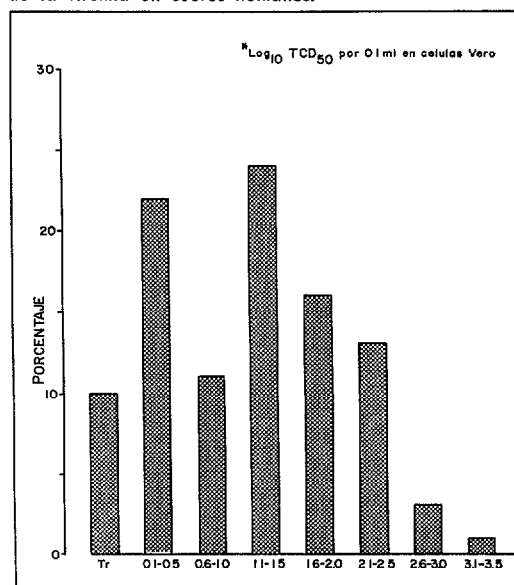
Días después del comienzo de la enfermedad	IH	CF
0	320	0
0	640	0
0	320	0
1	320	0
1	160	0
1	80	0
1	320	0
1	320	0
2	1,280	16
2	2,560	8
2	640	Trazas
3	640	0
3	1,280	8
5	640	0
6	160	0
6	1,280	8
6	2,560	64
7	2,560	8
8	320	8
8	5,120	16
10	2,560	256
15	2,560	512
16	1,280	256
30	640	64
60	80	8

FIGURA 4—Frecuencia de aislamiento de virus en sueros humanos, por día de enfermedad.



títulos expresado como TCD₅₀ por 0.1 ml en células Vero fue 1.3 en las primeras 24 horas del curso clínico, 0.9 entre las 24 y 48 horas y 0.4 de las 48 a 72 horas. La figura 5 muestra la distribución por frecuencia de los títulos del virus en 119 sueros humanos.

FIGURA 5—Distribución de la frecuencia de los títulos* de la viremia en sueros humanos.



sucedía. Fue posible aislar el virus venezolano de caballos enfermos en cada una de estas regiones.

Las observaciones hechas en las tres zonas de estudio mostraron que en los habitantes afectados los síntomas más comunes fueron: cefalea, mialgias y fiebre. Raramente se vieron signos neurológicos o de irritación meníngea; sin embargo, en El Carmelo hubo ocho casos comprobados de encefalitis franca que requirieron hospitalización, siete en niños y uno en un adulto joven; aunque estos enfermos se recuperaron clínicamente, el Departamento de Psiquiatría de la Universidad del Valle sigue observando a los niños en busca de posibles secuelas neurológicas o de comportamiento.

La figura 4 expresa la frecuencia de aislamiento del virus en sueros humanos según el día de enfermedad. El promedio de los

El cuadro 22 resume los resultados obtenidos con los sueros equinos, humanos y con suspensiones de artrópodos inoculados para el aislamiento de virus tanto en ratones como en células Vero.

Discusión

El brote de El Carmelo, el primero que se conoció de los varios que ocurrieron en Colombia en aquella época, se presentó en plena estación seca, seis meses después de que habían desaparecido las inundaciones en el valle del río Cauca. Es de interés anotar, sin embargo, que en contra de lo que siempre se había observado en años anteriores, las excavaciones descritas permanecieron llenas de agua durante todo el verano de 1967. Se considera que este hecho se debió a que el nivel de las aguas subterráneas, elevado aún más por la situación de diciembre de 1966, mantuvo el agua en tales pozos por un tiempo excepcionalmente prolongado, permitiendo la cría de mosquitos por largos meses.

En el suero de los caballos se encontró el virus con mayor frecuencia y con títulos más altos en los contactos asintomáticos que en los animales enfermos. Vale la pena anotar que en El Carmelo, después de obtener resultados negativos en el suero de 15 caballos sintomáticos y en los encéfalos de uno que fue sacrificado y de otro que murió, se vino a hacer el primer aislamiento de virus en un caballo sangrado 60 horas antes de notarlo enfermo. Esta observación es importante y debe tenerse en cuenta cuando se consideren medidas de control.

En El Carmelo la importancia de la proximidad de los equinos a los criaderos de mosquitos se apreció por las diferentes tasas de ataque clínico que fue de 72% en las inmediaciones de los pozos y de 27% en los sectores alejados.

Los estudios serológicos en los caballos centinelas mostraron que los anticuerpos en IH aparecieron alrededor de seis días después de ser expuestos a la infección. Los datos del cuadro 21 señalan que cuando un caballo se notaba enfermo, tenía títulos altos de anticuerpos en IH y que dos días después de iniciados los signos clínicos podía haber ya anticuerpos en FC, indicando que la infección tenía aproximadamente una semana, o quizá más, de haberse iniciado.

El hallazgo de anticuerpos en IH en bovinos, cerdos, perros y aves domésticas indicaría que estos vertebrados se infectaron en alguna época con el virus venezolano, sin haber mostrado síntomas. El papel que estos animales pudieron tener en el brote de 1967 no es claro. Se sabe que perros inoculados experimentalmente fueron susceptibles a la infección, desarrollaron viremias apreciables y algunos murieron (6-7); por otra parte, se ha informado el aislamiento del virus de EEV en un bovino de Guatemala (8). La alta mortalidad observada en los conejos domésticos y los resultados serológicos negativos en los sobrevivientes examinados, sugieren que la infección es letal para estos animales.

Los hamsters han mostrado ser excelentes indicadores de la actividad del virus venezolano en condiciones endémicas (9-11), más

CUADRO 22—Aislamientos de virus por inoculación en ratones y células Vero en El Carmelo, Atuncela y La María durante la epizootia de EEV en 1967.

Material	Ratón + Vero +	Ratón — Vero —	Ratón + Vero —	Ratón — Vero +	Total probado
Sueros equinos	23	13	0	0	36
Sueros humanos	73	6	0	4	83
Artrópodos	11	38	1	10	60
Total	107 57		1 14		179
	164		15		

no así en las circunstancias epizooticas de El Carmelo en donde los escasos resultados positivos se explicarían por la disponibilidad de otros vertebrados para los mosquitos o las preferencias de estos por determinados animales.

Aunque el virus venezolano fue aislado de aves silvestres en situaciones endémicas en San Vicente de Chucurí, Colombia (12) y en Almirante, Panamá (13), es difícil valorar la importancia que pudieron tener en el brote de El Carmelo. Sin embargo, se debe anotar que en el buho *Otus choliba* la viremia fue alta (4.7 log) y que, por otra parte, de 14 ejemplares de *Jacana jacana* —ave íntimamente relacionada con la vegetación acuática, en donde anida y obtiene alimento— en tres hubo evidencia de infección: un aislamiento de virus y dos positivos en IH. Los resultados negativos en 325 ejemplares, repartidos en 25 grupos, de *Culex erraticus*, mosquito esencialmente ornitofílico, y los escasos hallazgos positivos en aves sugieren que estas no tuvieron mayor papel en el episodio de El Carmelo.

El cuadro 23 da información para determinar si los aislamientos de virus en mosquitos de El Carmelo provenían de sangre ingerida recientemente de animales virémicos; los dos aislamientos hechos de capturas en trampas de luz pueden ser válidos o no,

pues los mosquitos así obtenidos ocasionalmente pueden contener el virus; los 10 aislamientos de mosquitos capturados en caballos hasta el 3 de septiembre pueden ser dudosos, ya que no se les permitió digerir la sangre y no se sabe si los caballos usados como cebo estaban virémicos; en cambio, se presume que los 37 aislamientos efectuados después de esa fecha son válidos pues los mosquitos se mantuvieron vivos de dos a cuatro días.

Puesto que durante el brote de El Carmelo enfermaron equinos y humanos, se averiguó si las mismas especies de mosquitos picaban a unos y otros; el 73% de 7,000 mosquitos y el 65% de más de 600 obtenidos sobre caballos y humanos, respectivamente, fueron del género *Mansonia*.

Entre el 14 de septiembre y finales de noviembre de 1967, ya pasada la epizootia, se mantuvo en El Carmelo una trampa establo con cebo de caballo. En ese período se colectaron más de 16,000 mosquitos que repartidos y procesados en 1,007 grupos, no mostraron virus, el cual parece haber desaparecido de la población de insectos con notable celeridad. La falta de animales virémicos, especialmente caballos, finalizada la epidemia, podría justificar la ausencia del virus en los mosquitos que nacieron después de ella, y para explicar la desaparición de

CUADRO 23—Aislamientos de virus de grupos de mosquitos (todas las especies combinadas) en relación con el número de grupos procesados en cada captura en El Carmelo, del 24 de agosto al 13 de septiembre de 1967.

Fecha de captura	Días mantenidos vivos	Cebo	Mosquitos				
			Tamaño del grupo	No. por captura	Grupos procesados	Grupos positivos	Porcentaje de positivos
Ago. 25	0	Caballo	8-48	126	4	1	25.0
" 29	0	"	1-119	356	8	4	50.0
" 30	0	"	1-120	781	12	2	16.7
" 31	0	"	1-47	116	7	2	28.6
" 31	0	Luz	1-29	125	8	1	12.5
Sept. 1	0	Caballo	1-43	71	5	1	20.0
" 3	0	Luz	1-24	76	7	1	14.3
" 5	3	Caballo	1-24	459	32	3	9.4
" 6	3	"	1-25	474	32	7	21.9
" 7	4	"	1-25	763	47	20	42.6
" 8	3	"	1-25	685	39	5	12.8
" 11	2	"	2-25	241	23	2	8.7
Total				4,273	224	49	21.9

los que se habían infectado en animales virémicos durante el brote, habría que pensar que tenían una vida corta o que no procuraban alimentarse de sangre más de dos veces.

Como ya se expresó, en El Carmelo se sangraron 269 personas febriles y en 133 se aisló el virus; de las 136 restantes fue posible examinar 70, unos cuatro meses más tarde, y en 38 (54%) de ellas se comprobó serológicamente la infección por EEV. Si esta tasa se aplica a los 136 enfermos agudos, de los cuales no se aisló el virus, se obtiene 73, cifra que sumada a los 133 virémicos da 206 que representa el número real de infecciones de EEV, o sea, el 77% de los casos clínicos observados.

La encuesta serológica hecha en El Carmelo un año después de la epidemia produjo resultados interesantes. En primer lugar, la prevalencia general de anticuerpos en IH fue sustancialmente más alta de la que se esperaría de acuerdo con los casos clínicos aparentes. Si al total de la población de 2,050 personas se aplica la tasa general de positividad serológica observada del 22%, se concluiría entonces que debió haber unas 450 infecciones; si se acepta que las perso-

nas que fueron positivas en IH pero negativas en FC, que representan un 10%, habían adquirido los anticuerpos antes del episodio de El Carmelo (posiblemente en otros sitios), entonces se podría calcular que apenas fueron unas 410 las que allí se infectaron con el virus de EEV entre agosto y septiembre de 1967. El hecho de que haya un número mayor de infecciones calculadas que de casos clínicos conocidos puede deberse a tres causas o a la combinación de ellas: 1) existencia de infecciones asintomáticas; 2) negativismo de los enfermos, especialmente los leves, después de darse cuenta de que fuera de administrárseles aspirina se aprovechaba la ocasión para tomarles una muestra de sangre, y 3) aparición de nuevos casos después de suspendida la vigilancia.

La relación entre enfermedad clínica humana e infección por sectores aparece en el cuadro 24. La proporción general entre infección y síntomas clínicos parece ser de dos a uno. Al estudiar tanto el cuadro anterior como la figura 6 se ve que los sectores rurales 4 y 5, donde coexistían las mayores concentraciones de caballos y de criaderos de mosquitos, fueron los que mostraron las

CUADRO 24—Comparación de las tasas de ataque clínico y de infección en humanos en El Carmelo, en 1967.

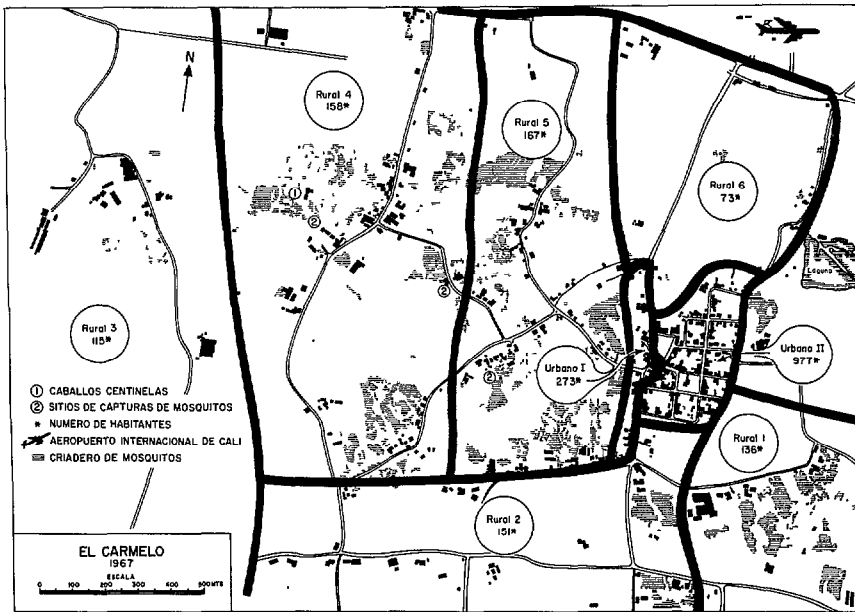
Sector	Población	Casos clínicos ^a	Tasa de ataque clínico ^b	No. calculado de infecciones ^c	Tasa de infección ^b	Proporción ^{a,c}	No. de sueros probados
Zona urbana							
I	273	57	21	67	25	0.8	20
II	977	50	5	116	12	0.4	101
Subtotal	1,250	107	9	183	15	0.6	121
Zona rural							
1	136	4	3	0	0	—	8
2	151	25	17	44	30	0.6	14
3	115	2	2	11	10	0.2	15
4	158	31	20	103	65	0.3	10
5	167	34	21	61	37	0.6	11
6	73	4	5	8	11	0.5	7
Subtotal	800	100	12	227	29	0.4	65
Total	2,050	207	10	410	20	0.5	186

^a Representa el 77% de todos los casos clínicos sospechosos.

^b Por cien habitantes.

^c Calculado así: la prevalencia general de anticuerpos IH de 22% (41 de 186 sueros) se reduce a 20% para tener en cuenta anticuerpos previos a la epidemia; las 410 infecciones nuevas se distribuyen luego de acuerdo con las tasas observadas de anticuerpos en la población de dos sectores urbanos y seis rurales.

FIGURA 6—Sectores rurales donde coexistían las mayores concentraciones de caballos y de criaderos de mosquitos.



tasas más altas de ataque clínico y de infección. Tanto la tasa de infección como la proporción entre enfermedad clínica y aquella fueron altas en los residentes del sector urbano I; vale la pena anotar que el Centro de Salud que prestaba atención médica, lo mismo que los investigadores, estaban localizados en este sector. Por otra parte en el sector rural 3, el más alejado del Centro de Salud, la tasa de ataque clínico y la proporción entre enfermedad e infección fueron bajas. Los datos sugieren que la proximidad al Centro de Salud tal vez influyó en la información de casos.

Como puede verse en el cuadro 1, las distribuciones de enfermedad e infección por edad y por sexo muestran notable paralelismo tanto en la zona urbana como en la rural, siendo ambas notoriamente altas en los hombres adultos de esta última, lo que indicaría que las infecciones posiblemente se contraían fuera del domicilio.

Las tasas de infección calculadas para los habitantes de la zona urbana de El Carmelo tuvieron relación inversa con la distancia de

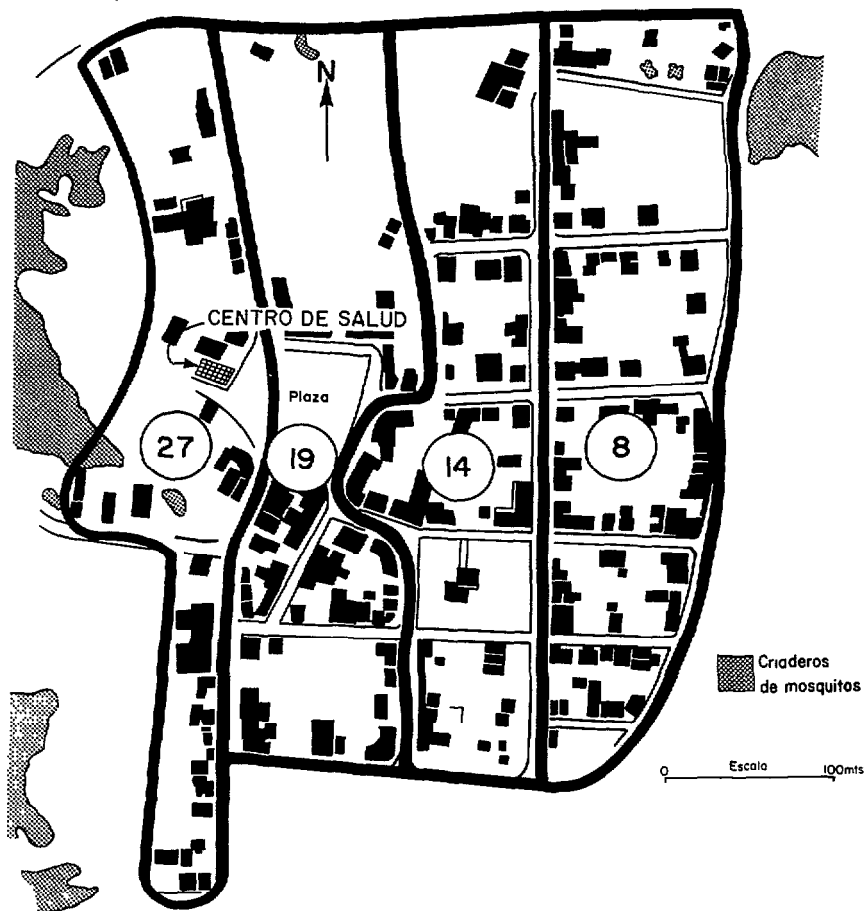
las casas a los criaderos de mosquitos y a las concentraciones de caballos, según se aprecia en la figura 7.

La epizootia en Atuncela comenzó casi simultáneamente con la de El Carmelo, o sea a principios de agosto; fue, en general, más prolongada y su ápice se observó más tardíamente. La declinación también fue más gradual, viéndose casos hasta la última semana de septiembre (figura 2).

Como los 14 sueros positivos en IH ($\bar{x}_g = 1:163$) entre las 76 personas san-gradadas en Atuncela, del 21 al 28 de septiembre, correspondieron todos a adultos, parecería que la transmisión estuvo relacionada con labores extradomiciliarias, al menos durante las primeras semanas del brote. Por otra parte, el estudio de los 43 sueros obtenidos cuatro meses después de la epidemia mostró una positividad general de 37% en IH ($\bar{x}_g = 1:100$). El reducido tamaño de la muestra no permite hacer comparaciones entre niños y adultos.

Con respecto a los resultados obtenidos en los sueros de bovinos y de cabras de

FIGURA 7—Tasas porcentuales de infección humana por EEV según la distancia de los criaderos de mosquitos, en la zona urbana El Carmelo.



Atuncela, el comentario podría ser similar al expresado con relación a los animales domésticos de El Carmelo.

Los resultados del cuadro 7 parecen indicar que los mamíferos pequeños capturados en Atuncela no estuvieron relacionados con el brote de esta localidad. En cuanto a las aves (cuadro 8), es de interés anotar que aunque los intentos de aislamiento de virus fueron negativos en 201 ejemplares, en cambio 2 de los 4 sueros probados en IH fueron positivos con títulos altos. El significado epidemiológico de este hallazgo es difícil de valorar.

Considerando a los *Simulium* de Atuncela en conjunto (cuadro 10) se vio que aproxi-

madamente 90% picaban a los caballos, con preferencia en la parte ventral y en las extremidades, sin que el animal se molestara. En cuanto al hombre, es posible que durante sus actividades normales la proporción de los simúlidos que le atacan sea aun menor que cuando, como en los ensayos hechos, se expone deliberadamente como cebo.

La composición por especies de los *Simulium* que picaban a caballos y humanos, durante tres ensayos en Atuncela, se encuentra en el cuadro 11. *S. exiguum* y *S. metallicum*, en conjunto, constituían el 98.2% de los que picaban a caballos, y el 89.8% de los que procuraban al hombre, respectivamente. Aunque por su diseño los experimentos de

captura no fueron estrictamente comparables, parecería que *S. callidum* mostró cierta preferencia por el hombre como lo indicarían sus proporciones en las cifras generales de los simúlidos capturados en Atuncela (cuadro 14), pues constituyó el 10% de 434 ejemplares obtenidos picando al hombre y solo el 2% de 26,450 capturados sobre caballo.

En La María, cuadro 17, la mayor parte de los artrópodos que picaban a humanos, caballos y bovinos eran simúlidos, cuyas especies eran las mismas de Atuncela pero en proporciones diferentes. En La María *S. callidum* era más abundante; la proporción de los que atacaban a caballos subió a 31%, y a 88% en las capturas sobre hombre (cuadros 18 y 20). Como en Atuncela, las trampas de luz mostraron también escasez de mosquitos de hábitos nocturnos.

Todos los aislamientos de virus de simúlidos se hicieron de grupos que se habían exprimido y lavado, con excepción de un grupo de *Simulium paynei*, especie de gran tamaño y resistencia, que se mantuvo vivo por dos días. Así pues, se considera que estos aislamientos pueden indicar: a) que el virus no provenía de sangre ingerida recientemente; b) la posible multiplicación del virus en el interior de los simúlidos y c) más aún, la posibilidad de que estos artrópodos efectúen una transmisión biológica.

Los datos acumulados del estudio de casos humanos, en las tres localidades, permitieron ver que la posibilidad de detectar viremia en los casos febriles se relaciona con la duración de los síntomas: así por ejemplo, en las primeras 48 horas se logró aislar el virus en casi un 100% de los casos, luego siguió un descenso progresivo hasta llegar a un 10%, o menos, después de cinco días (figura 4). Se observó también que los títulos descendieron con el tiempo de evolución de la enfermedad. No se pudo establecer relación entre el nivel de la fiebre en el momento de obtener la sangre y la posibilidad de aislar el virus, pero se reconoce que

pudo haber influencia de los antipiréticos que comúnmente tomaban los enfermos. Otra observación fue que en los 119 sueros humanos en los cuales se pudo titular la viremia (figura 5), la mayor frecuencia estuvo entre 0.1 y 2.5 log siendo 3.5 log la cifra más alta; es decir, las viremias en humanos fueron de títulos bajos si se las compara con las de los caballos. Que no hubo viremias presintomáticas pudiera deducirse de los hallazgos de Atuncela, en donde los aislamientos de virus se hicieron únicamente de nueve enfermos febriles, en tanto que 5 contactos asintomáticos susceptibles y otras 62 personas también susceptibles, sangradas durante la epidemia, no mostraron viremia.

Los resultados de los intentos de aislamiento de virus, expresados en el cuadro 22, indican que las células Vero se pueden emplear ventajosamente para el aislamiento del virus de EEV, pero sin que se pueda afirmar que sean más sensibles que los ratones, ya que en aquellas el volumen de material original que se inocula por tubo (0.1 ml) es cinco veces mayor que el inyectado por ratón (0.02 ml).

En Colombia la EEV adopta dos modalidades: una selvática, que se traduce en situaciones endémicas, y la otra epidémica, que se manifiesta esencialmente por grandes epizootias en équidos y enfermedad en humanos, con períodos interepidémicos alrededor de 20 años. Las zonas endémicas son regiones entre 0 y 1000 m de altura, temperatura media superior a 24°C y lluvias abundantes y continuas entre 2,000 y 8,000 mm por año; las epidémicas son zonas por debajo de 1,100 m, temperatura media superior a 24°C y lluvias estacionales entre 500 y 2,000 mm anuales. Según el sistema de formaciones vegetales de Holdridge las primeras corresponden a "bosque húmedo tropical" y "bosque muy húmedo tropical" y las segundas a "bosque seco tropical" y "bosque muy seco tropical" (14).

No se pretende saber de dónde venía el virus ni cómo entró a las zonas epidémicas.

Sin embargo, hay varias observaciones que indican la importancia de los equinos no solo en el mantenimiento sino también en la diseminación del virus durante los brotes. Se vio que los caballos tenían viremias altas y eran picados por gran número de mosquitos y simúlidos. En El Carmelo se capturaban 1,000 o más mosquitos por noche en trampa de caballo y en los caballos centinelas. Por ejemplo, se observaron viremias altas por dos a cuatro noches; esto permite suponer que uno de estos animales podría infectar, por lo menos, de 2,000 a 4,000 mosquitos. Los caballos son utilizados ampliamente para el transporte de personas y productos agrícolas a los mercados de las poblaciones pequeñas. En Dagua, por ejemplo, los habitantes, en un radio de 15 km, asisten con sus animales al mercado semanal; esta localidad es cruzada por el río Dagua, excelente criadero de simúlidos que pican durante el día a los caballos concentrados en la plaza. Un medio importante de diseminación fue sin duda el desplazamiento de equinos a grandes distancias para alejarlos de la epizootia. El siguiente caso lo ilustra: en una hacienda situada en el piso del valle del río Cauca había unos 150 caballos antes del brote, de los cuales murieron 40 en el curso de un mes; el dueño de los animales, en plena epizootia, trasladó en camiones a los sobrevivientes a otra finca situada en las estribaciones de la Cordillera Central, donde no había habido casos; una semana después de estar en el nuevo lugar, murieron con síntomas de encefalitis cuatro de los caballos desplazados, los cuales obviamente o incubaban el virus o estaban virémicos cuando los movilizaron.

Como no hay datos sobre el número de équidos que murieron en Colombia durante las epizootias, vale la pena intentar algunos cálculos. La población de estos animales en Colombia se estimaba en 2.5 millones (15) de los cuales, según el conocimiento directo del país, se calcula que unos 500,000 estuvieron expuestos al riesgo en las zonas

afectadas. Hay tasas exactas de mortalidad en los équidos de El Carmelo (20%) y Atuncela (33%) que si se aplican a esa población total darían entre 100,000 y 170,000 animales muertos. Sin embargo, las condiciones para la transmisión en los dos focos mencionados fueron evidentemente óptimas y las tasas de mortalidad, según informes recogidos, variaron mucho en sitios diferentes del país. Por lo tanto, si se acepta en forma conservadora un 10% de mortalidad, debieron morir por lo menos 50,000 animales.

De manera análoga se ha supuesto que unos dos millones de habitantes vivían en las zonas afectadas durante los brotes que se iniciaron en 1967 y si se aplica a esta población la tasa de infección general observada en El Carmelo (20%) no sería aventurado decir que el número de casos humanos debió ser alrededor de 400,000, cifra que pudiera reducirse apreciablemente al considerar que las condiciones óptimas de transmisión en El Carmelo, con dificultad se observaron en otros sitios. Los resultados provisionales de una encuesta serológica practicada año y medio más tarde por cuatro entidades —Universidad del Valle, Instituto Nacional de Salud de Colombia, Middle America Research Unit y Centro Internacional de Agricultura Tropical—, muestran que el 11% de las 1,865 personas representativas de las zonas epizooticas, tenía anticuerpos de EEV en la prueba CF; si este resultado, que indica infección reciente, se extrapola a los dos millones de habitantes mencionados, el número de personas afectadas fue del orden de 220,000.

En las tres zonas investigadas por los autores no hubo defunciones en humanos atribuibles a EEV. Las muertes, particularmente en niños, que en otros sitios del país se achacaron al virus venezolano no tuvieron confirmación virológica ni patológica.

Los mamíferos pequeños peridomésticos, en particular los del género *Rattus* y los marsupiales, parecen haber entrado en el

cuadro epidemiológico de El Carmelo donde la transmisión era por mosquitos de hábitos nocturnos; no así en Atuncela y La María, donde los aislamientos de virus de artrópodos fueron de simúlidos y mosquitos de actividad diurna.

Merece destacarse el aislamiento del virus en un ejemplar de *Artibeus lituratus* de El Carmelo; este resultado y la infección informada recientemente en *A. turpis* de México (16), indican que los quirópteros podrían haber desempeñado algún papel en la epidemiología de EEV.

Parece que las aves poco tuvieron que ver con las epidemias. Hubo apenas dos aislamientos de virus de 433 procesadas y anticuerpos sólo en cuatro de 203 sueros examinados.

Los hallazgos entomológicos se pueden resumir así: 1) En la zona de El Carmelo, con abundantes excavaciones anegadas convertidas con el tiempo en criaderos, existía una producción masiva de mosquitos de los que pican con preferencia a vertebrados grandes. Durante el período epidémico, el virus se aisló indiscriminadamente de las especies de las cuales se procesaron 84 o más ejemplares, con la excepción ya comentada de *Culex erraticus*; por otra parte, de 44 especímenes de *Anopheles punctimacula* hubo también un aislamiento de virus. 2) En Atuncela, donde los mosquitos criados a nivel del suelo prácticamente no existían en la parte habitada, la transmisión parece haber estado en relación con la presencia de grandes cantidades de *Simulium* y de escasos mosquitos diurnos. 3) El brote de Atuncela y el episodio de La María, región de pastizales situados en montañas de 1,400 a 1,500 m de altura en donde los *Simulium* aparecen también asociados a la epizootia, sugieren la posible existencia de otro mecanismo epidemiológico para la transmisión y migración del virus en terrenos montañosos.

Las observaciones de El Carmelo indican que la transmisión directa de EEV de

persona a persona y el ciclo hombre-mosquito-hombre, si acaso sucedieron, fueron de poca importancia y no contribuyeron a mantener la epidemia, por las siguientes razones: 1) Entre los contactos domiciliarios, inclusive los más estrechos, de los 10 individuos de nuestro personal que se infectaron durante las investigaciones descritas, no hubo casos clínicos ni conversiones serológicas. 2) Aunque el virus penetró en la zona urbana, las tasas de ataque clínico y de infección fueron de las más bajas observadas. 3) Aunque no se conoce el nivel necesario de viremia para infectar los mosquitos vectores en condiciones epidémicas, la mayoría de las viremias en el hombre fue de títulos bajos (0.1 a 2.5 log/0.1 ml en células Vero) y solo una llegó al nivel mínimo requerido para infectar los mosquitos probados por Chamberlain *et al* (17). 4) Tal vez lo más diciente fue que la epidemia en los humanos terminó cuando los equinos susceptibles se agotaron, a pesar de que cerca del 80% de la población no se había infectado y persistía la abundancia de mosquitos.

Es conveniente aclarar que los resultados serológicos tanto en humanos como en animales que se informan en este trabajo, representan únicamente anticuerpos de EEV que, por los altos títulos observados en IH, deben considerarse como específicos (18). Por otra parte, las pruebas de IH con estos mismos sueros frente a antígenos de EEE, WEE y Mayaro, no indican actividad de estos agentes. Además, los aislamientos hechos durante el brote, tanto de material de vertebrados como de artrópodos fueron siempre de virus de EEV, con excepción de los aislamientos de virus Maguarí obtenidos en el suero de dos caballos: uno sangrado en las cercanías de Cali y el otro en el valle del río Dagua. Igualmente, el procesamiento de muchos miles de artrópodos hematófagos recolectados en la región desde hace muchos años, lo mismo que los estudios

serológicos de humanos y animales domésticos y salvajes, tampoco han indicado actividad de ningún virus del grupo A, distinto del venezolano, en el valle del río Cauca.

En buen número de casos y en distintas regiones del país se observó que la mortalidad por EEV en los caballos que habían recibido las vacunas que se vendían localmente contra esta enfermedad, no difería de la presentada por los animales no vacunados, lo que indicaría falta de antigenicidad de tales productos biológicos. Otras veces, en lugares donde no hubo manifestación distinta de epizootia, inclusive en la Sabana de Bogotá a 2,600 m de altura, murieron caballos pocos días después de haber recibido la vacuna, lo que haría pensar en infecciones inducidas por productos incompletamente inactivados; de cuatro de estos casos se recuperaron virus del encéfalo.

Con el ánimo de probar en equinos en el campo, la utilidad de la vacuna de virus vivo atenuado descrita por McKinney *et al.* (19), se recomendó a las autoridades colombianas de salud pública que se hiciera el ensayo respectivo; los pormenores de tal experiencia serán motivo de otra publicación.

La necesidad de una vacuna segura y efectiva que produzca inmunidad duradera en equinos es evidente. Todo indica que estos son de importancia capital como amplificadores y diseminadores del virus de EEV, y en muchas situaciones, esenciales para mantener el brote en los humanos. Así pues, una inmunización adecuada de los equinos no sólo protegería a estos animales sino también indirectamente al hombre.

De la investigación aquí descrita existe una película cinematográfica en colores, preparada por el autor principal de este trabajo y el "National Medical Audiovisual Center" de Atlanta, Georgia, EUA, la cual puede obtenerse en el Centro, en español o en inglés, bajo la referencia M-1611.

Resumen

Los estudios hechos en tres brotes de EEV permitieron fijar tasas exactas de morbilidad y mortalidad en los equinos y calcular las de ataque clínico y de infección en los humanos. En una de las localidades los vectores fueron mosquitos y en las otras dos los hallazgos hechos hacen sospechar que los simúlidos pudieron haber intervenido en la transmisión. La evidencia de que los equinos fueron esenciales para mantener la epizootia y de gran importancia en la diseminación del virus, a más de que no hubo indicación de transmisión directa de persona a persona, ni de un ciclo hombre-mosquito-hombre, hacen obvia la necesidad urgente de una vacuna segura y efectiva para proteger a los equinos e indirectamente a los humanos. Los perros, cerdos, bovinos, cabras y aves de corral mostraron tasas altas de anticuerpos. En cuanto a la transmisión por *Culicidae*, el género *Rattus* y los marsupiales se vieron envueltos en el brote, pero no fue así cuando la transmisión se hizo por *Simulium* o mosquitos de hábitos diurnos. Los hamsters centinelas, que en situaciones selváticas son excelentes indicadores de la actividad del virus, no demostraron serlo en condiciones epizooticas. El empleo de células Vero para el aislamiento del virus resultó ser útil y posiblemente ventajoso al compararlo con la inoculación en ratón. □

Agradecimientos

Los autores reconocen con gratitud la eficaz colaboración de las siguientes personas: Dr. José Ignacio Borrero (Departamento de Biología, Universidad del Valle); Dr. Guillermo Llanos (Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad del Valle); Dr. Patrick N. Owens (Fundación Rockefeller); Dres. Jaime Barrera y Jaime Payán (Instituto Colombiano Agropecuario); Dres. Moisés Capera y Alberto Morales (Instituto Nacional para Programas Especiales de Salud).

REFERENCIAS

- (1) Sanmartín, C. y Arbeláez, N. "Inmunidad al virus de la encefalitis venezolana en la población de la Guajira, Colombia, en abril de 1963". *Bol Ofic Sanit Panamer* 59:516-525, 1965.
- (2) Sudia, W. D. y Chamberlain, R. W. "Battery-operated light trap, an improved model". *Mosquito News* 22:126-129, 1962.
- (3) Bates, M. "Notes on the construction and use of stable traps for mosquito studies". *J Nat Mal Soc* 3:135-145, 1944.
- (4) Clarke, D. H. y Casals, J. "Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses". *Amer J Trop Med Hyg* 7:561-573, 1958.
- (5) Shope, R. E. "The use of a microhemagglutination-inhibition test to follow antibody response after arthropod-borne virus infection in a community of forest animals". *An Microbiol* 11(A):167-171, 1963.
- (6) Taber, L. E.; Hogge, A. L. Jr., y McKinney, R. W. "Experimental infection of dogs with two strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus". *Amer J Trop Med Hyg* 14:647-651, 1965.
- (7) Davis, M. H. *et al.* "Mosquito transmission of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from experimentally infected dogs". *Amer J Trop Med Hyg* 15:227-230, 1966.
- (8) Sudia, W. D. *et al.* "Vector-host studies of an epizootic of Venezuelan equine encephalomyelitis in Guatemala, 1969". *Amer J Epidem* 93:137-143, 1971.
- (9) Scherer, W. F. *et al.* "Venezuelan equine encephalitis virus in Veracruz, México, and the use of hamsters as sentinels". *Science* 145:274-275, 1964.
- (10) Srihongse, S.; Scherer, W. F., y Galindo, P. "Detection of arboviruses by sentinel hamsters during the low period of transmission". *Amer J Trop Med Hyg* 16:519-524, 1967.
- (11) Sanmartín, C. *et al.* "Isolations of Venezuelan and eastern equine encephalomyelitis viruses from sentinel hamsters exposed in the Pacific lowlands of Colombia". *Amer J Trop Med Hyg* 20:469-473, 1971.
- (12) Groot, H. "Estudios sobre virus transmitidos por artrópodos en Colombia". *Rev Acad Colomb Ciencias Exactas Físicas y Naturales* 12:197-217, 1964.
- (13) Grayson, M. A. y Galindo, P. "Epidemiologic studies of Venezuelan equine encephalitis virus in Almirante, Panama". *Amer J Epidem* 88:80-96, 1968.
- (14) Espinal, L. S. y Montenegro, E. *Formaciones vegetales de Colombia, Memoria explicativa sobre el mapa ecológico*. Instituto Geográfico "Agustín Codazzi", Bogotá, Colombia, 201 págs., 1963.
- (15) *Atlas de Colombia. 2a ed.*, Instituto Geográfico "Agustín Codazzi", Bogotá, Colombia, i-xxvii, 216 págs., 1969.
- (16) Wong-Chia, C. y Scherer, W. F. "Aislamiento del virus de la encefalitis venezolana de un murciélago frugívoro (*Artibeus turpis*) en México". *Bol Ofic Sanit Panamer* 70:339-342, 1971.
- (17) Chamberlain, R. W. *et al.* "Venezuelan equine encephalomyelitis in wild birds". *Amer J Hyg* 63:261-273, 1956.
- (18) Sanmartín, C. y Dueñas, A. "Hemagglutination-inhibition and neutralization tests for the Venezuelan equine encephalomyelitis virus". *Amer J Trop Med Hyg* 8:346-348, 1959.
- (19) McKinney, R. W. *et al.* "Use of an attenuated strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus for immunization in man". En Symposium on Immunization against Arbovirus Infections, 1962. *Amer J Trop Med Hyg* 12:597-603, 1963.

Venezuelan equine encephalitis in Colombia, 1967 (Summary)

Studies carried out during three outbreaks of VEE made it possible to determine the exact morbidity and mortality rates in horses and to calculate the rates of clinical illness and infection in man. At one site the vectors were mosquitos; but findings at the other two locations point to the possibility that *Simulidae* may have played a part.

Evidence indicates that horses were essential to maintaining the epizootic and highly important in spreading the virus, especially since there was neither any indication of direct person-to-person transmission nor of a man-mosquito-man-cycle. This makes obvious the urgent need for a safe and effective vaccine to protect horses and, indirectly, man.

The studies also showed dogs, hogs, cattle, goats and barnyard fowl to have high antibody levels. When *Culicidae* transmitted the virus the genus *Rattus* and the marsupials were involved in the outbreak; but this was not the case when transmission was carried out by *Simulium* or mosquitos with diurnal habits.

Sentinel hamsters, that in wooded regions are excellent indicators of virus activity, were not shown to be so under epizootic conditions. The use of Vero cells to isolate the virus turned out to be useful and may have advantages over mouse inoculation.

Encefalite eqüina venezuelana na Colômbia—1967 (Resumo)

Estudos realizados em três surtos de EEV permitiram a determinação de taxas exatas de morbidade e mortalidade dos eqüinos, bem como o cálculo das taxas de atendimento clínico e de incidência da infecção no homem. Numa das localidades os vetores foram os mosquitos e nas outras duas há suspeita de que o *Simulium* possa haver contribuído para a transmissão da doença. A evidência de que os eqüinos foram os principais responsáveis pela epizootia e de que seu papel na disseminação do vírus foi de grande importância—não houve indícios de transmissão direta de pessoa a pessoa nem se comprovou o ciclo homem-mosquito-homem—torna patente a necessidade

de uma vacina segura e eficaz que proteja os eqüinos e, de maneira indireta, o homem. O cão, o porco, o boi, a cabra e as aves domésticas apresentaram elevadas taxas de anticorpos. Nos casos de transmissão pelos *Culicidae*, o gênero *Rattus* e os marsupiais estavam comprometidos no surto, o que não se verificou quando o *Simulium* ou os mosquitos de hábitos diurnos foram os agentes de transmissão. Os hamsters, que em estado selvagem são excelentes indicadores da atividade do vírus, não demonstraram sê-lo em casos de epizootia. Comprovou-se que o emprego de células Vero para o isolamento do vírus era mais eficaz comparativamente à inoculação de ratos.

L'encéphalite équine vénézuélienne en Colombie, 1967 (Résumé)

Les études effectuées concernant trois épidémies d'encéphalite équine vénézuélienne ont permis de déterminer les taux exacts de morbidité et de mortalité parmi les équidés et de calculer les taux d'attaque clinique et d'infection chez l'homme. Dans une des localités, les vecteurs étaient des moustiques et dans les autres deux les constatations faites font supposer que les simuliés auraient pu être en cause dans la transmission. Le fait que les équidés ont été essentiels pour la continuation de l'épizootie et qu'ils ont joué un rôle très important dans la dissémination du virus, sans compter l'absence d'une indication de transmission directe de personne à personne et de cycle homme-moustique-homme, fait nettement ressortir la nécessité urgente d'un vaccin

sûr et efficace pour protéger les équidés et indirectement l'homme. On a relevé chez les chiens, les porcins, les bovins, les caprins et les oiseaux de basse-cour des taux élevés d'anticorps. En ce qui concerne la transmission par les *Culicidae*, le genre *Rattus* et les marsupiaux se sont vus mis en cause lors de cette poussée; toutefois, il n'en a pas été ainsi lors de la transmission par les *Simulium* ou par les moustiques ayant des habitudes diurnes. Les hamsters sentinelles qui, à l'état sauvage, sont des indicateurs excellents de l'activité du virus, ne se sont pas avérés l'être dans des conditions épizootiques. L'emploi de cellules Vero pour l'isolement du virus s'est révélé utile et éventuellement avantageuse par rapport à l'inoculation à la souris.