

Encefalitis equina Venezolana. Revisión.

María Elena de Bellard, Sulamita Levine y Ernesto Borilla.

Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina,
Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo 4001-A, Venezuela
e INBIOMED-FUNDACITE Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Resumen. La encefalomiелitis equina venezolana (EEV) es una de las infecciones virales del sistema nervioso más serias, ya que tiene una rápida y amplia distribución geográfica y hasta puede producir secuelas como retardo mental, demencia, amnesia, aborto, epilepsia e hidroanencefalia en humanos y animales infectados. Esta infección se localiza principalmente en dos tejidos: linfohematopoyético y nervioso. El virus de la EEV tiene una especial actividad citopática sobre las células nerviosas (glía y neuronas) mientras que las lesiones que produce en la mielina probablemente son una consecuencia de la respuesta inmune del huésped. Las alteraciones producidas por el virus de la EEV en los diferentes tipos neuronales, pueden dar origen a modificaciones en las concentraciones de diversos neurotransmisores y sus receptores localizados en la membrana plasmática. Otros cambios bioquímicos reportados parecen ser debidos al efecto citopático del virus.

Venezuelan equine encephalomyelitis. Review.

Invest. Clin. 30(1):31-58, 1989.

Abstract. The Venezuelan equine encephalomyelitis (VEE) is one of the most serious viral infections of the nervous system. It has a wide geographic distribution and may give rise to sequela like mental retardation, amnesia, abortion, epilepsy and hidroanencephaly in infected humans and animals. The pathology of this infection is focused mainly in two tissues: lymphohematopoietic and nervous. The VEE virus has a special cytopathic activity on the nervous cells (glia and neurons) while the lesions produced in the myelin are probably a consequence of the immunological response of the host to the infection. The alterations produced by the VEE virus in different neuronal types can originate changes in the brain concentrations of several neurotransmitters and their receptors. Some biochemical modifications that have also been reported could be due to the cytopathic effect of the virus.

INTRODUCCION

La encefalitis es un proceso inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) (143) que se caracteriza por síntomas febriles, afectación de las meninges y producción de una disfunción focal del cerebro, tallo cerebral y cerebelo. Se pueden observar secuelas de retardo mental, epilepsia, parálisis, sordera o ceguera (40, 42).

EPIDEMIOLOGIA

La incidencia de las encefalitis virales tiende a tener una distribución geográfica y estacional (122, 128, 163). Como son endémicas en áreas restringidas, tienden a ser denominadas de acuerdo a su localización: encefalitis japonesa, encefalitis equina oriental, encefalitis de San Luis, encefalitis equina occidental, encefalitis equina venezolana y encefalitis australiana (40).

Los Togavirus son un grupo viral responsable en muchos casos de las encefalitis virales diagnosticadas. Dentro de este grupo está el virus de la encefalitis equina venezolana (EEV), que pertenece al género Alphavirus (16, 19). La infección causada por el virus de la EEV fue descrita por primera vez durante un brote epizootico en Venezuela. Kubes y Ríos (78) aislaron el virus en 1939.

Los hallazgos epidemiológicos descritos revelan que la infección viral por EEV puede ser transmitida por mosquitos *Aedes aegypti*, *taylori* (28, 81, 117), por miembros de la familia *Culex* (27,

28, 46, 123) y por las moscas *Simulidae* (64). Los roedores (65, 164, 165), burros, caballos, el ganado vacuno, murciélagos (49, 124, 125, 137) y posiblemente las aves (35) y los perros (31), han sido considerados como reservorios del virus de la EEV (32, 33, 135, 142).

El virus de la EEV comprende dos grandes categorías. Una está compuesta de cepas conocidas como enzoóticas, en las que el virus cicla en roedores de los bosques tropicales. Estas cepas no son letales para los caballos. La otra categoría comprende aquellas cepas conocidas como epizooticas que producen una alta mortalidad equina. En ninguna de las cepas epizooticas se ha demostrado que el virus cicla enzoóticamente en roedores. En general, las cepas virales recobradas durante las epidemias y epizootias son virulentas para ambos huéspedes (72), mientras que las cepas recuperadas entre los brotes son relativamente benignas para los equinos, aunque pueden producir la enfermedad en los humanos infectados (130). Las cepas epidémicas parecen desaparecer después de haber infectado a la mayoría de los huéspedes susceptibles y es entonces cuando sólo se observan las cepas endémicas. Hasta ahora, no se ha encontrado ningún mecanismo para explicar el mantenimiento de las cepas equinovirulentas de EEV durante los períodos interepizooticos y la escasez de mosquitos ocasionada por las sequías. Sin embargo, se ha sugerido que el virus epizootico de la EEV puede permanecer latente por

prolongados períodos de tiempo en los huéspedes, mamíferos, con una posterior activación (38, 72, 73, 118). Otro posible mecanismo es la transmisión directa de vertebrado a vertebrado, ya sea por contacto o aerosol, o por pasaje de la madre infectada al feto o por la lactancia (139, 164). De hecho, se ha demostrado la presencia de cepas epizoóticas de EEV en leche y heces de caballos infectados (72, 75). También se ha demostrado la infección en caballos (75), perros (31), gallinas (34) y ratas (164). No así en murciélagos (138).

El hallazgo de Justines (74) de dos tipos de placas que pueden aislarse de dos cepas epizoóticas de la EEV sostiene la posibilidad de que las cepas epizoóticas sean mantenidas en ciclos silenciosos de mosquito-vertebrado. La presencia de placas minúsculas, distintas de las placas pequeñas predominantes en las cepas P-676 y MF-8, muestra que las cepas epizoóticas pueden estar compuestas de una población de viriones heterogénea. El hallazgo, en virus epizoóticos, de viriones que son menos letales para los equinos sugiere que las fluctuaciones en la proporción de los tipos de viriones en la población viral puede afectar la patogenicidad de los virus en los equinos. La modulación de la proporción de viriones con alta y baja letalidad para equinos en la población viral, como sugieren los hallazgos con la cepa MF-8, puede ser un resultado del paso del virus a través de los diferentes huéspedes y vectores en el campo (74).

Otro factor de importancia en la transmisión del virus es la competencia del vector (mosquito) ante los niveles de viremia de los huéspedes naturales en los habitats enzoóticos. Si los mosquitos infectados pueden transmitir el virus luego de ingerir pequeñas cantidades del mismo, un huésped, con un nivel bajo de viremia, puede servir como huésped amplificador en la naturaleza, a pesar de no ser un portador evidente por su bajo nivel de infección. Scherer et al (132) demostraron que *Culex (Melanoconion) taeniopus* es capaz de servir como fuente infecciosa de cepas de virus enzoóticos a pesar de los bajos niveles de viremia de los huéspedes picados.

Weaver et al (155) encontraron que el vector enzoótico *Culex (Mel)*, *taeniopus* tiene una barrera mesentérica de escape para los virus epizoóticos. Sin embargo, la transmisión, bajo condiciones de campo, no parece afectada por esta barrera. La significación epidemiológica de esta barrera es que previene que los *Culex taeniopus* sean infectados con las cepas epizoóticas virulentas, y evita que este mosquito actúe como un vector biológico durante los estallidos epizoóticos. Esta barrera también ayuda a que estos virus se mantengan en un ciclo estable y silencioso, como el que se da en los subtipos enzoóticos de la EEV (133, 155).

En equinos, la enfermedad usualmente se desarrolla con un cuadro dramático de infección; la mortalidad puede alcanzar el 83% (62, 76, 97, 115). En humanos, la

infección por el virus de la EEV puede ser asintomática, pero con frecuencia causa una enfermedad autolimitada tipo influenza (98, 126). Sin embargo, un buen número de personas jóvenes, particularmente niños, desarrollan la infección con un cuadro de graves manifestaciones neurológicas y hasta la muerte (6, 39, 54, 60, 72, 120, 121, 154). Se han reportado casos de epilepsia y disfunción cerebral en niños que sufrieron la EEV (83), o una aparente infección inocua de etiología encefalítica (153).

La infección por el virus de la EEV es un problema grave de salud pública (140). Las epizootias de EEV se originaron principalmente en el norte de América del Sur, pero luego se extendieron a varios países de América Central y aún hasta el Sur de los Estados Unidos (21, 22). Tiene una amplia distribución geográfica (5, 17, 18, 32, 43, 63, 71, 91, 163); puede invadir rápidamente extensos territorios y causar grandes epizootias que darían lugar a un alto número de infecciones en humanos y equinos (53, 76, 120) y permanece en forma enzoótica por largos períodos de tiempo (92, 134, 150, 151).

SINTOMATOLOGÍA

La infección por el virus de la EEV produce en el hombre una serie de manifestaciones clínicas que varían desde síntomas ligeros hasta los fatales (98).

La enfermedad comienza con fiebre, escalofríos, cefaleas, mial-

gias, dolores diseminados, y vómitos. Sin embargo, en uno o dos días el paciente se pone somnoliento y débil, muchas veces con rigidez de la nuca. Los casos más graves progresan hacia estados de confusión, parálisis, convulsiones, coma y muerte (40, 70, 104, 135, 141).

El período de incubación del virus de la EEV varía de 2 a 5 días. El cuadro usualmente es muy brusco. Los síntomas persisten en los casos sencillos por 3 a 5 días, y hasta por 8 días en los casos más graves, aún después de haber desaparecido los síntomas generales. Luego se observa una pronta y, aparentemente, completa recuperación (20, 135, 140). En los niños, la infección con EEV puede producir excitación cortical y, en un bajo porcentaje de los casos, depresión sensorial. En el 50% de los pacientes se han demostrado altos niveles de glucosa en el líquido cefalorraquídeo (LCR). También se observan comúnmente niveles elevados de albúmina en el LCR de los pacientes (54).

Negrette (102, 103) encontró neutrofilia o neutropenia, eosinofilia y linfocitopenia en las muestras sanguíneas de pacientes infectados con EEV. También reportó leucocitos vacuolados en el 98% de los casos. Consideró la presencia de vacuolas intracelulares como una consecuencia del efecto citopático del virus de la EEV. Walker et al (152) demostraron que la infección con EEV tiene un linfo y mielotropismo especial, que puede considerarse responsable de la vacuolización del

citoplasma y de la reducción en el número de linfocitos (1, 49, 149).

ESTUDIOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Entre los diferentes tipos de virus de la EEV existe un espectro de cepas virulentas y avirulentas (72, 165). Esta expresión de virulencia es uno de los varios parámetros de la interacción virus-huésped que debe distinguirse de otros, como la eficacia de la infección o la estimulación de la inmunidad. Estas separadas, pero interactuantes características de la relación virus-huésped dependen de la ruta de infección, la dosis y heterogeneidad y/o cepa del virus, el estadio de desarrollo del huésped (94, 127, 149), y la resistencia del huésped (dependiente de sus determinantes genéticos) (67, 77).

Generalmente, con las cepas virulentas se produce tanto la enfermedad como la muerte (95), mientras que con un virus atenuado (TC-83) se produce menos del 20% de mortalidad en los hámsteres infectados (94). Sin embargo, estas observaciones cambian dependiendo de la cepa del animal (131). Si éste está todavía desarrollándose, poseerá una especial susceptibilidad para el virus atenuado (68, 69, 79).

Los estudios patológicos sobre la virulencia de la infección por el virus de la EEV se iniciaron en 1956 usando diferentes huéspedes animales (75, 147). Estos estudios demostraron que la infección experimental con el virus de EEV produce una necrosis generalizada de los te-

jidos mieloides y linfoides. También se ha demostrado neurotropismo en ratones, conejillos de indias, conejos y monos (56, 146). Se han descrito cambios vasculares en el cerebro y las vísceras, lesiones degenerativas y necróticas en el páncreas, y una severa disminución de los tejidos hematopoyéticos en el caballo (75).

En 1962, Gleiser et al (56), estudiaron la patología de la infección por EEV en conejillos de indias, ratones, monos y burros. Las respuestas clínicas y patológicas a la infección con la cepa Trinitaria de la EEV, fueron marcadamente inconstantes en las especies usadas. Sin embargo, el sistema linfático probó ser un objetivo universal en todos los animales estudiados. Se observó que los conejillos de indias son muy sensibles a la infección viral, con una susceptibilidad que ocasionaba la muerte antes de que se diera el cuadro clínico florido de la enfermedad (131). Sin embargo, los conejillos de indias parcialmente inmunizados desarrollaban la infección con evidencias de encefalitis (147). En ratones, se observó encefalitis en el día 4, cuando la mayoría de las células de la capa granular externa de la corteza cerebral estaban necróticas. A los seis días había una extensa y difusa encefalomiелitis, con un marcado aumento de la población glial. Un hallazgo inesperado fue el de la destrucción masiva de las neuronas motoras grandes en la médula espinal del ratón (56). Esta puede ser la razón de la parálisis de los miem-

bros, que es característica de esta infección en los ratones (57).

En monos, a pesar de la ausencia de una respuesta clínica a la infección con EEV, fuera de los episodios febriles, los estudios histológicos revelaron lesiones asociadas a la infección aguda por EEV. Se observó proliferación glial con mínima lesión neuronal (56). Mas aún, no había evidencia de degeneración axonal, y las lesiones fueron observadas en toda la materia gris excepto en las cortezas occipital y cerebelosa, e hipocampo, áreas que no son generalmente invadidas. La única alteración en el cerebelo se observó en los núcleos medulares. Mientras que el estriado estaba afectado en solo 3 monos, el tálamo fue el sitio donde se observaron las lesiones mas intensas (56).

Los hámsteres han sido propuestos como buenos animales experimentales de esta infección, dado que la letalidad se correlaciona bien con la morbilidad humana, aunque no con la mortalidad equina (69). Los estudios histopatológicos en hámsteres infectados con las cepas virulentas (63Z21, I, II, III) y las no virulentas (IV, TC83) del virus de la EEV han demostrado dos tejidos de ataque: el sistema hematopoyético (principalmente médula ósea, nódulos linfáticos, incluyendo los de Peyer, la parte blanca del bazo y el timo) y el cerebro. El desarrollo de las lesiones histopatológicas se correlaciona con el grado de virulencia de la cepa viral, medido por su letalidad y periodo de incubación (4, 69). Con el subtipo I, altamente vi-

rulento, de la EEV, todos los hámsteres murieron entre los 3 y 5 días, y las principales lesiones fueron hemorragia cerebral y daño en las células de Purkinje. En la medida en que disminuye la virulencia, el comienzo de la enfermedad se retarda, aun cuando se lesionan las células de Purkinje y se producen hemorragias cerebrales, pero sin daños detectables en las células hematopoyéticas. La infección con las cepas atenuadas solo provocó inflamación de las células gliales en la corteza cerebral del hámster (69).

Los hámsteres infectados con dos cepas avirulentas de la EEV (TC83 y Fe3-7c) mostraron desmielinización de los tractos olfatorios laterales, con una marcada respuesta glial y necrosis de las neuronas del bulbo olfatorio durante la fase aguda de la infección (36). Las lesiones comenzaban con una vasculitis seguida de una encefalitis progresiva desmielinizante y necrosis neuronal. La desmielinización parece proceder a lo largo del tracto olfatorio lateral y desde el bulbo olfatorio hacia el lóbulo piriforme de los animales infectados (36).

Se hallaron modificaciones subcelulares en el tejido cerebral de ratas lactantes infectadas con el virus de la EEV (47, 48), observándose alteraciones en el número de ribosomas, del retículo endoplasmático y de la estructura mitocondrial en las neuronas de los animales infectados. En las neuronas invadidas por el virus, la actividad de la fosfatasa ácida estaba aumentada. Las células gliales mostraron edematiza-

ción, y el complejo de Golgi estaba agrandado, presentando un aspecto tortuoso y tubular. En los astrocitos, el citoplasma se observó edematizado, vacío y con gránulos de glucógeno (47).

Estudiando la reacción de los astrocitos a una infección aguda con el virus de la EEV, Zlotnik encontró que, dependiendo de la ruta de inoculación, invariablemente se encuentran varios grados de proliferación astrocítica y de hipertrofia (167). En los casos en los cuales los cambios degenerativos e inflamatorios del SNC llegaban a un desenlace fatal, los astrocitos adquirían gran tamaño, y finalmente degeneraban y desaparecían. Cuando el proceso encefalítico terminaba en recuperación, algunos cerebros mostraban un lento retorno a la normalidad, en la medida en que los astrocitos disminuían de tamaño. En otros casos, a pesar de la recuperación clínica, tanto la proliferación astrocítica como la hipertrofia, continuaron por un tiempo considerable. La infección producía una hipertrofia de astrocitos o daba lugar a una espesa fibrosis y esclerosis de varias áreas del cerebro de ratón (167). Por tales razones, los animales sufrirían luego complicaciones derivadas de esta infección (168).

García-Tamayo et al (50) estudiaron las alteraciones del SNC de ratas que sobrevivieron a una infección subletal con la cepa Goajira de la EEV. Usando microscopía de luz y electrónica, ellos encontraron alteraciones en los organelos citoplasmáticos, con edema del citoplasma

y ruptura de las membranas en algunas neuronas. Un mes después de la infección viral, las células microgliales eran numerosas en la materia gris cerebral, particularmente en las áreas donde la población neuronal estaba disminuida.

Como secuela de las lesiones inducidas durante la fase aguda de la infección, se observó necrosis cavitaria, actividad macrofágica, e infiltrados mononucleares en la corteza cerebral. Es importante destacar que la actividad mononuclear persistió en el SNC hasta tres meses después del pico de la infección en las ratas que se recuperaron y parecían estar saludables. También se observaron cambios axonales, como áreas focales de inflamación con masas osmiofilicas y tortuosidades de los cuerpos membranosos. Algunos axones mostraron estos cambios, a pesar de una apariencia normal de la vaina de mielina, lo que era sugerente de una alteración degenerativa transináptica en el SNC (50).

La patogenia de la infección por EEV en humanos es poco conocida, principalmente por la escasez de estudios anatomopatológicos en humanos muertos por la infección con este virus. En 1963, Domínguez (37) estudió doce pacientes fallecidos durante la epidemia de EEV que azotó al estado Zulia (Venezuela) en 1962-1963. En las leptomeninges observó infiltrados difusos, poco intensos y muy escasos polinucleares. En el tallo encefálico, en especial en la sustancia negra, observó densos infiltrados perivasculares en forma de manguitos con proliferación glial

alrededor de los vasos, del tipo de microglia. En las células ganglionares de la sustancia negra notó una marcada disminución de la pigmentación, fenómenos de cromolisis intensa y picnosis nuclear. Concluyó que se trataba de una encefalitis de predominio de tallo encefálico.

Johnson et al (71) reportaron un caso fatal en Panamá, en 1968. Monte et al (98) describen la histopatología de 21 casos de autopsia donde se probó la infección por EEV, durante la epidemia de 1962-1963 en la Guajira Venezolana (116). Dichos autores encontraron lesiones histopatológicas significativas en el SNC (100%) de los casos estudiados, nódulos linfáticos (77%), bazo (100%), tracto gastrointestinal (100%), hígado (72%) y pulmón (100%). Los riñones y glándulas adrenales fueron poco lesionados, y el páncreas, timo, corazón y tiroides no mostraron ninguna lesión. La naturaleza de estas lesiones fue, en todos los casos, de tipo inflamatorio; con infiltrados en los tejidos, principalmente por células linfoides y mononucleares, así como neutrófilos e histiocitos. La lesión histológica más observada fue edema en el SNC, tracto gastrointestinal y pulmón. En los nódulos linfáticos y tracto gastrointestinal se observó, en el 100% de los casos estudiados, necrosis folicular. La necrosis folicular del tejido linfático es uno de los primeros cambios patológicos en la infección por EEV, y da cuenta de la profunda linfocitopenia e inmunosupresión inicial que se observa en esta enfermedad (98).

Los hallazgos patológicos más importantes en cerebro de niños de 2-11 años, muertos por la infección por EEV, se localizaron preferentemente en el tallo cerebral, particularmente a nivel de la sustancia negra. Las lesiones en el putamen, globo pálido, núcleo caudado, tálamo óptico, puente, médula espinal y cerebelo no fueron muy notorias (157).

Se ha especulado mucho sobre la posible ruta de invasión del SNC por el virus de la EEV. Se ha sugerido que, luego de la infección, el virus circulante en la sangre, puede cruzar la barrera hematoencefálica, o entrar por los bulbos olfatorios (36) alcanzando así el SNC a través de los axones (69). García-Tamayo ha reportado la presencia del virus en los capilares sanguíneos y alrededor de la vaina de mielina de los axones (47).

EFFECTO TERATOGENICO

Por mucho tiempo se pensó que algunos casos de malformaciones congénitas y de mortalidad fetal debían ser atribuidos a ciertas infecciones virales prenatales (99). Esto se demostró experimentalmente al observarse que monos infectados durante su gestación con los virus de la influenza, parotiditis o encefalitis equina occidental, tenían daño permanente del SNC (99, 100, 136). London et al (86) demostraron un efecto teratogénico de la infección por EEV en fetos de monos *M. mulatta*. Ellos observaron microcefalia e hidrocefalia en todos los animales

infectados con el virus de la vacuna TC83. Los monos controles, infectados con un virus inactivado o neutralizado, no mostraron ninguna malformación cerebral. Freitas et al (45), considerando las alteraciones feto-placentarias inducidas en ratas por la cepa inocua TC83, concluyeron que la vacuna del virus de la EEV (TC83) es teratogénica en ratas y primates no humanos y, por lo tanto, debe ser considerada como potencialmente teratogénica para el hombre.

Spertzel et al (144) y Garcia-Tamayo et al (52) demostraron la viabilidad de la transmisión transplacentaria e intrauterina del virus de la EEV en ratones y ratas. Ambos grupos mostraron que la infección por el virus de la EEV, durante el primer trimestre del embarazo, provocaba abortos espontáneos en los animales. Este hallazgo se correlaciona con la observación de un incremento en la frecuencia de abortos en las pacientes que presumiblemente estuvieron expuestas a la EEV durante los primeros tres meses de su embarazo, en la epidemia de 1962 en la Goajira Venezolana (159). Justines et al (73) también demostraron el paso transplacentario del virus epizootico de la EEV, la cepa P-676, en el 50% de las yeguas infectadas en el último trimestre de gestación. Los fetos infectados y abortados mostraron altos títulos en los órganos y en la sangre, pero no tenían anticuerpos contra el virus. Esto hizo pensar que la infección con EEV en equinos puede durar

más tiempo en los fetos que en los adultos.

Los estudios sobre la patología humana fueron iniciados por Wenger (157-160) en 1962, luego de la epidemia ocurrida en la Goajira Venezolana (6, 41). Wenger (158) describió el hallazgo de serias lesiones cerebrales en neonatos humanos cuyas madres, durante el tercero al octavo mes de embarazo, estuvieron expuestas a la infección con el virus de la EEV. Los hemisferios cerebrales estaban hinchados y necrosados extensamente en los fetos expuestos a la infección por EEV durante el 7o al 8o mes de gestación. En el grupo intermedio (exposición viral durante el 5o al 7o mes), se observó necrosis y reabsorción del tejido necrótico. Pero en los casos mas tempranos (exposición viral durante el 3o al 4o mes, el tejido nervioso había desaparecido casi en su totalidad (158). Aunque el virus de la EEV no fue demostrado en el tejido nervioso infectado, los hallazgos patológicos se consideraron inducidos por la infección con EEV (158), dada su similitud con otros estudios patológicos en cerebro de neonatos y animales infectados con el mismo virus.

HALLAZGOS INMUNOPATOLOGICOS

El virus de la EEV ha sido clasificado en 4 subtipos (I hasta IV) formando un complejo, donde se reconocen 5 variantes antigénicas (IA a IE) dentro del subtipo I. Subsecuentemente, se observó que las epizootias estaban asociadas sólo

con los virus del subtipo I (variedad A, B, y C) (44, 114, 145); los demás subtipos son enzoóticos. Hasta ahora se han identificado 158 cepas del virus de la EEV (87 epizoóticas y 71 enzoóticas) (92, 129, 156).

Se ha reportado que la inmunización atenuada contra la EEV produce una población celular antígeno-reactiva que es capaz de responder específicamente a un antígeno viral homólogo, y que la administración de células inmunes del bazo, a huéspedes no inmunes, confiere protección contra la infección letal (1). Los estudios sobre transferencia pasiva demostraron que sólo las células antígeno-reactivas, susceptibles de ser eliminadas por el antisuero dirigido contra los linfocitos T, son capaces de conferir inmunidad adoptiva en un recipiente normal (1). Estos resultados apoyan la existencia de una respuesta inmune responsable de la destrucción de la mielina por los macrófagos en los animales infectados con EEV (1, 23).

DalCanto y Rabinowitz (30) encontraron, igualmente, que la infección por el virus de la EEV produce lesiones desmielinizantes mediadas por vía inmune, al comparar la infección por EEV en ratones sin pelos y en heterocigotos. Después de 9 días de la infección, los ratones heterocigotos mostraron inflamación, necrosis, disrupción parenquimatosa y muchas células agrandadas con inclusiones citoplasmáticas en el cerebro, médula espinal y cerebelo. En pocos axones se observó la degeneración de tipo Walleriana en la cercanía de la mayoría de las

áreas afectadas severamente en la materia gris. La destrucción de las vainas de mielina fue extensa. Dichas vainas tenían las laminillas desenrolladas por los procesos de infiltración de células mononucleares, o parecían disolverse por un proceso de disrupción vesicular. Los autores observaron un número moderado de partículas virales en las células degeneradas, de 6 a 7 días después de la infección, en relación anatómica con las membranas citoplasmáticas del SNC. La misma infección por EEV, en los ratones sin pelos, mostró cambios focales como necrosis celular y células infiltradas en la materia gris, que estaban más pronunciadas en el hipocampo y el cerebelo. No habían células inflamatorias en las meninges o en la materia blanca, ni alteraciones en las vainas de mielina, tanto del cerebro como de la médula espinal de estos ratones (30).

En monos, Gleiser et al (66) observaron que las lesiones producidas por la infección con la cepa Trinidad del virus de la EEV, eran principalmente de naturaleza inflamatoria y se consideraban como una respuesta a una reacción antígeno-anticuerpo, dado que pudo ser suprimida, en el SNC, por la administración de cortisona (55). En los fetos de monos o en ratones neonatos, inoculados por vía intracerebral con la vacuna del virus de EEV TC83, London et al observaron lesiones cerebrales antes de que el sistema inmunológico estuviera desarrollado (86). Jahrling et al (69) inocularon hámsteres, tratados previamente

con el inmunosupresor citoxano, con la cepa TC83 y observaron severas lesiones necrotizantes. Alrededor del 50% de los hamsters controles infectados con la TC83 también desarrollaron lesiones hemorrágicas en los lóbulos olfatorios. Estas lesiones no eran tan severas o extensas en los controles como en los grupos inmunosuprimidos. La necrosis producida por la inoculación con TC83, sugiere que la inmunosupresión incrementó la virulencia de esta cepa.

Jahrling y col (69) sostienen la hipótesis de que las lesiones cerebrales ocurren secundariamente a la interacción del virus TC83 con la médula ósea, y que esta interacción con la médula es más destructiva cuando los hamsters están inmunosuprimidos. Dill et al (36) creen que la necrosis de los sistemas hemato-poyético y linfoide, producida por dos cepas avirulentas de EEV, es transitoria y probablemente no suficiente para alterar seriamente la respuesta inmune o inflamatoria. Estudios *in vivo* con cepas virulentas de EEV en algunas especies como ratón (80, 146), caballo (75), y mono (96), mostraron que los sitios extraneurales del crecimiento viral contribuyeron a la invasión letal del SNC (152). Siguiendo esta línea de investigación, Walker et al (152) encontraron extensa necrosis mieloide y linforreticular en los hamsters infectados con la cepa virulenta (IB) de EEV.

Es posible que la encefalitis y la neuritis sean debidas a una reacción inmune cruzada, evocada por

determinantes antigénicos específicos, (epitopos) que son homólogos a ciertas regiones en la mielina del SNC, como muestra el hallazgo de Jahnke et al (67) sobre influenza, Epstein-Barr y viruela, para dos proteínas de la mielina de humanos. En consecuencia, el curso de la infectividad de esta enfermedad es multifactorial (148).

El trabajo de DalCanto y Rabinowitz (30) indica que aunque la respuesta inflamatoria no es necesaria para el desarrollo de las lesiones de la materia gris, en la infección por EEV la respuesta de las células mononucleares es un requisito indispensable para la desmielinización primaria de la materia blanca (29).

Una pregunta que todavía no está claramente respondida es si el genoma viral es capaz de inducir un aumento en la producción de la fosfatasa ácida u otras enzimas como consecuencia de un efecto directo sobre las células nerviosas o si los efectos observados son debido a una respuesta inmune (47, 48, 108).

AMINAS BIOGENICAS

Lycke y Roos publicaron el primer trabajo que relaciona a las aminas biogénicas con una infección viral causante de encefalitis (87-89). Estos autores estudiaron las concentraciones de dopamina (DA), norepinefrina (NE), serotonina (5-HT), ácido homovanílico (HVA) y ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en cerebro de ratones infectados con virus herpes simplex (HSV). Ellos en-

contraron altas concentraciones de los metabolitos HVA y 5-HIAA, debidas probablemente a un incremento en la liberación de DA y 5-HT. De hecho, Lycke y Roos (89) demostraron una correlación positiva entre las dosis virales y el contenido de HVA en cerebro de ratones infectados, lo cual indica la existencia de una relación causal entre la infección viral por HSV y el metabolismo monoamínico alterado.

Bonilla *et al* (8, 9) estudiaron el sistema catecolaminérgico en ratones inoculados con la cepa Goajira de la EEV. En el sexto día después de la inoculación, cuando la parálisis de los miembros era evidente, encontraron un aumento en las concentraciones de DA, HVA, y 5-HT en el cerebro completo, pero sin cambios en los niveles de NE. Tal parece que la infección con EEV produce un incremento en la actividad de las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas de los ratones. Lima *et al* (85) trabajaron con ratones inoculados con la cepa Pixuna, menos virulenta que la Goajira y encontraron una disminución en la tasa de intercambio de 5-HT en la corteza cerebral y el raphe.

Levine *et al* (84) estudiaron la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa (TH) en el neostriado, hipotálamo y cerebro medio de ratas, durante la fase aguda de la infección con EEV. Encontraron una disminución de la actividad de esta enzima en las tres regiones. Dado que la vía nigroestriatal constituye la principal contribución al sistema dopaminérgico en el SNC, esta disminu-

ción en la actividad de la TH, observada en el estriado y cerebro medio, puede ser debida a una alteración en las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales. La disminución observada en el hipotálamo se atribuyó a cambios en la actividad neuronal tanto dopaminérgica como noradrenérgica, dado que esta región presenta terminales de ambos neurotransmisores (84).

En ratones infectados con EEV se ha demostrado un descenso en el contenido de GABA en los hemisferios cerebrales (10). La actividad de la enzima que sintetiza el GABA, glutamato descarboxilasa (GAD), también estaba reducida en los hemisferios cerebrales, neostriado y corteza frontal de los animales infectados, comparados con los valores de los animales control en las mismas regiones. Las actividades de las enzimas GABA-transaminasas, glutamato deshidrogenasa, lactato deshidrogenasa, succinato deshidrogenasa y NAD-malato deshidrogenasa no mostraron ningún cambio en las regiones estudiadas. Estos resultados sugieren que la infección viral por EEV produce una alteración en el mecanismo de síntesis del GABA (10).

La enzima colina acetiltransferasa (CAT), que es la responsable de la síntesis de la acetilcolina (AC), es característica de las neuronas colinérgicas, mientras que la acetilcolinesterasa (ACE) se encuentra tanto en las neuronas colinérgicas como en las colineceptivas. Cuando la actividad de CAT fue estudiada en ratones y ratas infectadas con el virus

de la EEV, se halló que estaba disminuida en todas las regiones cerebrales que son ricas en neuronas colinérgicas: núcleo caudado, hipotálamo, cerebro medio, hipocampo y corteza frontal, mientras que no se observó ningún cambio en el puente y cerebelo. Cuando la actividad de CAT fue medida diariamente en los ratones infectados, la disminución fue detectada cuando aparecieron los síntomas de la infección (ataxia, temblor, parálisis). La actividad de la ACE, por otro lado, no fue afectada en ninguna de las regiones analizadas (11).

La disminución en las actividades de TH (84), GAD (10) y CAT (11), encontrada en roedores infectados con EEV, sugiere una reducción en la síntesis proteica, un incremento en la degradación proteolítica y/o cambios en las propiedades cinéticas de estas enzimas sintetizadoras de neurotransmisores. Por lo tanto, uno o más de los síntomas observados durante la infección aguda de los roedores pueden deberse a alteraciones en las neuronas colinérgicas, catecolaminérgicas y gabaérgicas.

RECEPTORES

La infección con el virus de la EEV parece afectar, por lo menos, a tres de los sistemas enzimáticos de la neurotransmisión. Pero, otro tipo de proteínas, como los receptores de membrana a los neurotransmisores, son también vulnerables a la infección viral. Bonilla *et al* (12) estudiaron los receptores dopaminérgicos,

determinando la fijación de 3H-espiroperidol (26) en cerebro de ratas infectadas con el virus de la EEV.

Las concentraciones de los receptores (Bmax) halladas en el neocórtex, cerebro medio y corteza frontal de estas ratas estaban significativamente disminuidas, cuando se compararon a los controles (12). La disminución fue más marcada en la corteza frontal. También se observó que las constantes de afinidad (Kd) de los receptores por el ligando no estaban alteradas. Esta reducción en el valor de fijación del 3H-espiroperidol significa que hay una pérdida de proteínas de membrana o una disminución en el número total de células en los tejidos estudiados (25).

Moreno *et al* (101) encontraron un incremento significativo en la fijación específica de 3H-GABA en el cerebelo de ratas infectadas con EEV. Este aumento de la fijación de 3H-GABA puede ser debido a una reducción en la liberación del neurotransmisor, que parece ser responsable de la supersensibilidad postsináptica hallada (101).

Los estudios de Lima *et al* (85) sugieren que el receptor serotoninérgico está supersensibilizado por la infección con el virus de la EEV. En los ratones infectados encontraron un aumento en la actividad locomotora después de la administración del precursor, 5-hidroxitriptófano, y del agonista serotoninérgico postsináptico, 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina.

AMINOACIDOS Y LA INFECCION VIRAL POR EEV

En ratones inoculados con el virus de la EEV se observó un aumento significativo de las concentraciones estriatales de arginina, isoleucina, leucina, glicina, fenilalanina, serina, treonina y valina, mientras que los niveles de alanina, asparagina, aspartato, GABA, glutamina y taurina estaban reducidos (13). No se detectó ningún cambio en las concentraciones estriatales de tirosina y ácido glutámico. Se sabe que los niveles de aminoácidos, en el cerebro, pueden ser alterados por varios factores, incluyendo trastornos degenerativos, mecanismos autolíticos, que se dan después de muerto el animal, o por una infección (3). Bónilla *et al* (14) encontraron que en ratas infectadas con EEV los niveles de alanina, arginina, asparagina, glutamina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina estaban aumentados en el estriado. Por el contrario, las concentraciones de aspartato, GABA, glutamato y taurina estaban significativamente reducidas. Es interesante destacar que las concentraciones estriatales de algunos aminoácidos, que estaban aumentadas durante la fase aguda de la infección (arginina, isoleucina, leucina y fenilalanina), disminuyeron significativamente en los animales sobrevivientes a la misma. Dado que estos aminoácidos atraviesan la barrera hematoencefálica por un mecanismo de transporte simple (162), y puesto que sus niveles séri-

cos no estaban alterados en las ratas sobrevivientes, es posible que estos cambios observados en el estriado sean una consecuencia directa de la acción del virus de la EEV sobre las células estriatales (14). Quizás los cambios en los niveles de glutamina se deban a los requerimientos del virus de la EEV durante su replicación y a la reproducción glial aumentada que se observa característicamente durante la fase aguda de esta infección.

COMPLICACIONES DE LA INFECCION VIRAL

Son varias las secuelas que se pueden originar por una infección viral por EEV (90, 98): déficits neurológicos prolongados (50, 83), posiblemente diabetes mellitus (58, 111-113), teratogénesis (157-160) u oncogénesis (107). Negrette y Mosqueira (104) observaron psicosis y alucinaciones en pacientes con un síndrome encefalítico. Hay reportes que relacionan la esquizofrenia con la presencia de partículas virales en el cerebro (166). Las encefalitis virales en niños pueden ser seguidas por epilepsia y retardo mental (24, 59, 61, 110).

Rayfield *et al* (111, 112) reportaron que la infección por el virus de la EEV en hámster produjo, luego de 24 días de convalecencia, alteraciones en la curva de tolerancia a la glucosa y en la liberación de insulina plasmática. Luego de 90 días, la liberación de insulina aun permanecía alterada. El mismo patrón fue descrito por Bowen *et al* (15) en mo-

nos jóvenes 2, 5 a 10 meses después de la infección con la cepa Trinitaria de la EEV. Ryder y Ryder (119) estudiaron humanos clínicamente infectados con la EEV, y no observaron ninguna alteración metabólica consistente con la diabetes, nueve años después de la infección. Igualmente Monte *et al* (98) no hallaron lesiones pancreáticas en pacientes fallecidos por la infección por EEV. Aparentemente la EEV no es diabetogénica en humanos como lo es en algunos animales.

CONCLUSIONES

El virus de la EEV parece ser de tipo pantrópico y no un verdadero neurotrópo, dado que produce lesiones tanto viscerales como neurológicas. La severidad de estas últimas es probablemente una función de la intensidad de la replicación viral lograda en este sistema en los diferentes huéspedes animales, o es dependiente de la virulencia de la cepa (56).

Hay muchas evidencias indicativas de que tanto la sustancia gris como la blanca son especialmente afectadas por la infección con el virus de la EEV, aunque durante los primeros días de la infección, el virus causa necrosis en otros tejidos (50, 146, 147). La mayoría de los autores piensa que las lesiones de la sustancia gris dependen de la actividad citolítica viral (30, 57, 82, 147); mientras que algunos investigadores han sugerido que los mecanismos inmunológicos juegan un papel principal o secundario en el

daño neuronal (7, 49, 109, 152, 161). Muy probablemente la infección con el virus de la EEV tiene una actividad citopática en el cerebro, como lo sugiere la extensa presencia de partículas virales en las neuronas, durante los primeros días de la infección y porque la inflamación del cerebro en animales infectados está asociada con la destrucción y pérdida de cuerpos neuronales, así como la necrosis y el daño vascular (49, 51, 97, 115). Las lesiones de la sustancia blanca aparentemente son debidas a la actividad macrofágica en este tejido, como lo demuestra la existencia de una relación directa entre el número de células infiltradas y la severidad de la ruptura de la mielina (51).

La disminución de la concentración de taurina en el estriado de ratones (13) y ratas (14) infectadas con la EEV tiene una especial significación. Las alteraciones en el contenido y transporte de la taurina han sido asociadas con algunos desórdenes clínicos como la epilepsia (2), la depresión (106) y la ataxia (41). Como la depresión es uno de los síntomas de esta infección viral en el hombre (104), se requiere de una evaluación del metabolismo de la taurina en humanos infectados con la EEV.

A la luz de nuestros hallazgos, sería de interés determinar si, además de los roedores, los primates infectados con el virus de la EEV muestran los mismos cambios. Esto ayudaría a establecer una correlación entre los síntomas neurológicos, los episodios de alteración emo-

cional y el comportamiento psicótico observados en humanos con esta infección (104) y los cambios en los neurotransmisores y en las concentraciones de aminoácidos libres en el cerebro infectado.

Casi todas las regiones del cerebro de los roedores estudiados en nuestro laboratorio mostraron extensas alteraciones bioquímicas durante la fase aguda de la infección por EEV; pero la mayoría de las funciones cerebelosas no fueron tocadas. De hecho, sólo los receptores a GABA se hallaron afectados en el cerebelo. Por otro lado, no se observaron cambios en las actividades de TH (84), GAD (10) y CAT (11) en las ratas que sobrevivieron a la infección por EEV, a pesar de que éstas tenían altos títulos de anticuerpos. Los estados postencefalíticos deben ser examinados para demostrar cualquier daño, inducido por el virus, distinto al efecto desmielinizante y a la hipertrofia astrocítica observada en roedores (30, 49, 167).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado parcialmente por la FUNDACIÓN POLAR, FUNDACITE-ZULIA y CONDES-L.U.Z.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ADLER W.H., RABINOWITZ S.G.: Host defenses during primary Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection in mice. II. In vitro methods for the measurement and qualification of the immune response. *J Immunol* 110(15):1354-1362, 1973.
- 2- AIRAKSINEN E.M.: Uptake of taurine, GABA, 5-HT and dopamine by blood platelets in progressive myoclonus epilepsy. *Epilepsia* 20:503-510, 1979.
- 3- ARAI H., KOBAYASJI K., ICHIMAYAY., KOSAKAK., IZUKAR.: A preliminary study of free amino acids in the postmortem temporal cortex from Alzheimer-type dementia patients. *Neurobiol aging* 5:319-321, 1984.
- 4- AUSTIN F.J., SCHERER W.F.: Growth and histopathology of virulent and attenuated strains of Venezuelan encephalitis virus in hamsters. *Amer J Pathol* 62:195-210, 1971.
- 5- AVILAN J., El brote de encefalitis equina venezolana al norte del Estado Zulia a fines de 1962. *Rev. Vzlna. SAS* 29:231-321, 1964.
- 6- AVILAN J.: Los brotes de encefalitis equina venezolana en Venezuela durante 1962 a 1964. *Rev Venez Sanid Assit Soc* 31 (Suppl 3):787-805, 1966.
- 7- BERGE T.O., GLEISER Ch.A., GOCHENOUR W.S., MIESSE M.L., TIGERTT W.T.: Studies on the virus of Venezuelan equine encephalomyelitis. *J Immunol* 87:509-517, 1961.
- 8- BONILLA E., RYDER E.: VEE virus infection: effect on dopamine metabolism of mouse brain. Preliminary communication. *Invest. Clín.* 14:82-86, 1973.
- 9- BONILLAE., RYDER S., HERNÁNDEZ H.: VEE virus infection: effect on monoamine metabolism of mouse brain. *J Neurochem* 35:529-530, 1975.

- 10- BONILLAE., RYDER E., RYDER S.: GABA metabolism in VEE virus infection. *Neurochem Res* 5:209-215, 1980.
- 11- BONILLA E., HERNÁNDEZ H., SALAZAR M., RANGEL P.: Effect of VEE virus infection on brain choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activities. *Brain Res* 253:330-333, 1982.
- 12- BONILLA E., SALAZAR M., ESTÉVEZ J., HERNÁNDEZ H., RANGEL P.: 3H-Spiroperidol binding decreases in brains of rats infected with VEE virus. *Experientia* 40:868-869, 1984.
- 13- BONILLA E., PRASSAD A.L.N., ESTÉVEZ J., HERNÁNDEZ H., ARRIETA A.: Free aminoacids in the striatum of mice infected with venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Exp Neurol* 93:434-439, 1986.
- 14- BONILLA E., PRASSAD A.L.N., ESTÉVEZ J., HERNÁNDEZ H., ARRIETA A.: Changes in serum and striatal free amino acids after venezuelan equine encephalomyelitis virus infection. *Exp Neurol* 99:647-654, 1988.
- 15- BOWEN G.S., RAYFIELD E.J., MONATH T.P., KEMP G.E.: Studies of glucose metabolism in Rhesus monkey after Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection. *J Med Virol* 6:227-234, 1980.
- 16- BRICEÑO-ROSSI A.L.: Rural epidemic encephalitis in Venezuelan caused by a group A Arbovirus (VEE). *Prog Med Virol* 9:176-203, 1967.
- 17- CALISHER C.H., KINNEY R.M., DeSOUZA-LOPEZ O., TRENT D.W., MONATH T.P., FRANCY D.B.: Identification of a new Venezuelan equine encephalitis virus from Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 31:1260-1272, 1982.
- 18- CALISHER C.H., MONTAH T.P., MITCHELL C.J., SABATINI M.S., CROPP C.B., KERSCHNER J., HUNT A.R., LAZUICK J.S.: Arbovirus investigations in Argentina 1977-1980. *Am J Trop Med Hyg* 34:956-965, 1985.
- 19- CALISHER C.H., KARABATSON N., LAZUICK J.S., MONATH T.P., WOLFF K.L.: Reevaluation of the WEE antigenic complex of alphavirus (from *Togaviridae*) as determined by neutralization tests. *Am J Trop Med Hyg* 38:447-452, 1988.
- 20- CASSALS J., CURNEN E., THOMAS L.: Venezuelan equine encephalomyelitis in man. *J Expt Med* 77: 521-530, 1943.
- 21- CHAMBERLAIN R.W., SUDIA W.D., COLEMAN P.H., WORK T.H.: Venezuelan equine encephalitis virus from south Florida. *Science* 145:272-274, 1964.
- 22- CHAMBERLAIN R.W., SUDIA W.D., WORK T.H., COLEMAN P.H., NEWHOUSE V.F., JOHNSTON J.G.: Arboviruses studies in south Florida, with emphasis on Venezuelan encephalomyelitis virus. *Am J Epidemiol* 89:197-210, 1969.
- 23- CLATCH R.J., LIPTON H., MILLER S.D.: Characterization of Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV)-specific delayed type hypersensitivity responses in TMEV-induced demyelinating disease: correlation with clinical signs. *J Immunol* 136:920-927, 1986.

- 24- COREY L., STONE E.F., WHITLEY R.J., MOHANK.: Difference between Herpes simplex virus type I and type 2 neonatal encephalities in neurological outcome. *The Lancet* No 8575,6:1-4, 1988.
- 25- CREESE I., BURT D.R., SNYDER S.H.: Dopamine receptorbinding enhancement accompanies lesion-induced behavioral supersensitivity. *Science* 197:596-598, 1977.
- 26- CREESE I., SCHNEIDER R., SNYDER S.H.: 3H-Spiroperidol labels dopamine receptors in pituitary and brain. *Europ J Pharmacol* 46:377-381, 1977.
- 27- CUPP E.W., SCHERER W.F., ORDÓÑEZ J.V.: Transmission of VEE virus by naturally infected *Culex* (melanoconion) opisthopus. *Am J Trop Med Hyg* 28:1060-1063, 1979.
- 28- CUPP E.W., SCHERER W.F., LOK J.B., BRENNER R.J., DZIEM G.M., ORDÓÑEZ J.V.: Entomological studies at an enzootic VEE virus focus in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 35:851-859, 1986.
- 29- DALCANTO M.C., RABINOWITZ S.G., JOHNSON T.C.: Virus-induced demyelination. Production by a viral temperature-sensitive mutant. *J Neurol Sci* 42:155-168, 1979.
- 30- DALCANTO M., RABINOWITZ S.G.: Central nervous system demyelination in venezuelan equine encephalomyelitis. An experimental model of virus-induced myelin injury. *J Neurol Sci* 49:397-418, 1981.
- 31- DAVIS M.H., HOGGE A.L., CORRISTANE C., FERREL J.F.: Mosquito transmission of Venezuelan equine encephalomyelitis virus from experimentally infected dogs. *Am J Trop Med Hyg* 15:227-230, 1966.
- 32- DICKERMAN R.W., SCHERER W.F., DIAZ-NAJERA A.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico. I. Introduction and study sites. *Amer J Trop Med Hyg* 20:730-739, 1971.
- 33- DICKERMAN R.W., SCHERER W.F., MOORHOUSE A.S., TOAZ E., ESSEX M.E., STEELER E.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico. VI. Infection of wild birds. *Amer J Trop Med Hyg* 21:66-78, 1971.
- 34- DICKERMAN R.W., BONACORSA C.M.: Venezuelan equine encephalitis viral infection of newly hatched chicks and embryonating eggs. *Am J Vet Res* 36:1231-1233, 1975.
- 35- DICKERMAN R.W., MARTIN M.S., DIPAOLO E.A.: Studies of Venezuelan encephalitis in migrating birds in relation to possible transport of virus from south to central america. *Am J Trop Med Hyg* 29:269-276, 1980.
- 36- DILL G.S., PEDERSON C.E., STOOKEY J.E.: A comparison of the tissue lesions produced in adult hamsters by two strains of avirulent Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Amer J Pathol* 72:13-18, 1973.
- 37- DOMINGUEZ A.: Estudio neuroanatomopatológico de la Encefalitis Equina Venezolana. *Invest. Clín* 6:7-10, 1963.
- 38- EDDY G.A., MARTIN D.H., JOHNSON K.M.: Epidemiology of the VEE virus complex. *Proc 3rd. Int Conf Equine Infection Diseases*, pp. 126-145, 1972.

- 39- EHRENKRANZ N.J., VENTURA A.K.: Venezuelan equine encephalitis virus infection in man. *Ann Rev Med* 25: 9-14, 1974.
- 40- FENNER F.J., WHITE D.O.: *MEDICAL VIROLOGY*, Academic Press, N.Y. 2nd ed. p. 123-130, 1976.
- 41- FILLA A., BUTTERWORTH R.F., BARBEAU A.: *Can J Neurol Sci* 6:285- 289, 1979.
- 42- FINLEY K.H., RIGGS N.: Convalescence and sequelae. In *St. LOUIS ENCEPHALITIS* by T.P. Monath (ed), chapter 12, pp. 542-547, 1980.
- 43- FRANCK P.T., JOHNSON K.M.: An outbreak of Venezuelan encephalitis in man in the Panamá Canal Zone. *Am J Trop Med Hyg* 19:860-865, 1970.
- 44- FRANCK P.T.: Significance of geographic distribution of VEE virus variants. *Venezuelan Encephalitis PAHO Scientific Publications No 243 PAHO*, Washington DC, pp. 322-328, 1972.
- 45- FREITES F., de GARCES A., GARCIA-TAMAYO J.: Alteraciones fetoplacentarias inducidas en ratas por la cepa TC 83 del virus de la encefalitis equina venezolana. *Invest. Clín.* 27:25-48, 1986.
- 46- GALINDO P., GRAYSON M.A.: *Culex (mel) aikenii* Natural vector in Panama of endemic Venezuelan encephalitis. *Science* 172:594-595, 1971.
- 47- GARCIA-TAMAYO J.: Desarrollo del virus de la EEV en el tejido nervioso de ratones recién nacidos. *Ultraestructura e histoquímica.* *Invest. Clín.* 37:7-63, 1971.
- 48- GARCIA-TAMAYO J.: Acid phosphatase activity in mouse brain infected with VEE virus. *J Virol* 8:232-241, 1971.
- 49- GARCIA-TAMAYO J., ESPARZA J.: Importancia de la respuesta celular en el fenómeno encefalítico inducido por el virus de la encefalitis equina venezolana. *Patología* 16:215-229, 1978.
- 50- GARCIA-TAMAYO J., CARREÑO G., ESPARZA J.: CNS alterations as sequelae of VEE virus infection in the rat. *J Path* 128:87-91, 1979.
- 51- GARCIA-TAMAYO J., ESPARZA J.: VEE. *Comp Pathol Bull* 12:2, 1981.
- 52- GARCIA-TAMAYO J., ESPARZA J., MARTINEZ J.: Placental and fetal alterations due to VEE virus in rats. *Inf & Immunity*, 32:813-821, 1981.
- 53- GARMAN J.L., SCHERER W.F., DICKERMAN R.W.: A study of equine virulence of naturally occurring Venezuelan encephalitis virus in Veracruz with description of antibody responses. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* 21:238-251, 1968.
- 54- GASKIN D., SOTO-ESCALONA A.: Encefalitis equina venezolana. Estudio clínico y de laboratorio en pacientes pediátricos. *Invest Clín* 14:145-158, 1973.
- 55- GLEISER C.H., GOCHENOUR W.S., BERGE T.O., TIGERTT W.D.: Studies on the virus of Venezuelan equine encephalomyelitis. I. Modification by cortisone of the response of the central nervous system of *Macaca mulatta*. *J Immunol* 87:504-508, 1961.
- 56- GLEISER C.A., GOCHENOUR W.S., BERGE T.O., TIGERTT W.D.: The comparative pathology of experimental Venezuelan equine encephalomyelitis infection in different animal hosts. *J Infec Dis* 110:80-97, 1962.

- 57- GORELKIN L.: Venezuelan equine encephalomyelitis in an adult animal host. An electron microscopic study. *Amer J Pathol* 73:425-442, 1973.
- 58- GORELKIN L., JAHRLING P.B.: Pancreatic involvement by Venezuelan equine encephalomyelitis virus in the hamster. *Am J Pathol* 75:349-362, 1974.
- 59- GRAY F., SERDAU M., BARON H., DAUMAS-DUPOUR C., LORON P., SAURON B., POIRIER J.: Chronic localised encephalitis (Rasmussen's) in an adult with epilepsia continua. *J Neurol Neurosurg & Psych* 50:747-751, 1987.
- 60- GROOT H.: The health and economic impact of VEE. In *VENEZUELAN ENCEPHALITIS PAHO*. Proceeding of Symposium on VEE virus. p. 7-15. Washington, 1972.
- 61- GUPTA P.C., ROY S., TANDON P.N.: Progressive epilepsy due to chronic persistent encephalitis, report of four cases. *J Neurol Sci* 22:105-120, 1974.
- 62- HENDERSON B.E., CAHPPELL W.A., JOHNSTON J.G., SUDIA W.D.: Experimental infection of horses with three strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. I. Clinical and virological studies. *Am J Epidemiol* 93:194-205, 1971.
- 63- HINMAN A.R., McGOWAN Jr. J.E., HENDERSON B.E.: Venezuelan equine encephalomyelitis: surveys of human illness during an epizootic in Guatemala and El Salvador. *Am J Epidemiol* 93:130-136, 1971.
- 64- HOMAN E.J., ZULUAGA F.N., YUILL T.M., LORBACHER H.: Studies on the transmission of VEE virus by a colombian Simuliidae (Diptera). *Ann J Trop Med Hyg* 34:799-804, 1985.
- 65- HOWARD A.T.: Experimental infection and intracage transmission of Venezuelan equine encephalitis virus (subtype IB) among cotton rats, *Sigmodon hispidus* (Say and Odr). *Am J Trop Med Hyg* 23:1178-1184, 1975.
- 66- HUPPI P., BOLOGA L., HERSCHKOWITZ N.: Serum antibodies to central nervous system antigens: an analysis of their relation with different human neurologic disorders. *Nerochem Res* 12:659-665, 1987.
- 67- JAHNKE U., FISCHER E.H., ALVORD E.C.: Sequence homology between certain viral proteins related to encephalomyelitis and neuritis. *Science* 229:282-284, 1985.
- 68- JARHLING P.B., SCHERER W.F.: Histopathology and distribution of viral antigens in hamsters infected with virulent and benign Venezuelan encephalitis viruses. *Am J Pathol* 72:25-38, 1973.
- 69- JAHRLING P., DENDY E., EDDY G.: Correlates to increased lethality of attenuated venezuelan encephalitis virus vaccine to immuno suppressed hamsters. *Infect Immunity* 9:924-930, 1974.
- 70- JAHRLING P., DE PAOLI A., POWANDA M.C.: Pathogenesis of a Venezuelan encephalitis virus strain lethal for adult white rats. *J Med Virol* 2:109-116, 1978.
- 71- JOHNSON K.M., SHELOKOV A., PERALTA P.H., DAMMIN G.J., YOUNG N.A.: Recovery of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in Panamá. *Am J Trop Med Hyg* 17: 432-440, 1968.

- 72- JOHNSON K.M., MARTIN D.H.: Venezuelan equine encephalomyelitis. *Adv Vet Sci Comp Med* 18:79-116, 1974.
- 73- JUSTINES G., SUCRE H., ALVAREZ O.: Transplacental transmission of VEE in horses. *Am J Trop Med Hyg* 29:653-656, 1980.
- 74- JUSTINES G., ORO G., ALVAREZ O.: Venezuelan equine encephalitis virus: horse virulence of P-676 and MF-8 small and minute plaques. *Am J Trop Med Hyg* 30:444-448, 1981.
- 75- KISSLING R.E., CHAMBERLAIN R.W., NELSON D.B., STAMM D.D.: Venezuelan equine encephalomyelitis in horses. *Am J Hyg* 63:274-287, 1956.
- 76- KNOBLER R.L., HASPEL M.V., OLDSTONE M.B.A.: Mouse hepatitis virus type 4 (JHM strain) induced fatal CNS disease. I. Genetic control on the murine neuron as the susceptible site of disease. *J Exp Med* 153:832-843, 1981.
- 77- KISSLING R.E., CHAMBERLAIN R.W.: Venezuelan equine encephalitis. *Adv Vet Sci* 11:6584, 1967.
- 78- KUBES V., RIOS F.A.: The causative agent of infectious equine encephalomyelitis in Venezuela. *Science* 90:20-21, 1939.
- 79- KUNDING W.D., LIU C., RODINA P.: Pathogenesis of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J Immunol* 96:39-48, 1966.
- 80- KUNDING W.D.: Pathogenesis of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. II Infection in young adult mice. *J Immunol* 96:49-57, 1966.
- 81- LARSEN J.R., ASHLEY R.F.: Demonstration of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in tissues of *Aedes aegypti*. *Amer J Trop Med Hyg* 20:754-760, 1971.
- 82- LEBLANC P.A., SCHERER W.F., SUSSDORF D.H.: Infections of congenitally athymic (nude) and normal mice with avirulent strains of Venezuelan encephalitis virus. *Infec Immun* 21:779-785, 1978.
- 83- LEON C.A., JARAMILLO R., MARTINEZ S., FERNANDEZ F., TELLER H., LASSO B., DE GUZMAN R.: Sequelae of Venezuelan equine encephalomyelitis in humans: a four year follow-up. *Int J Epidemiol* 4:131-140, 1975.
- 84- LEVINE S., BONILLA E., RYDER S., SALAZAR M., RANGEL P.: Tyrosine hydroxylase activity in VEE virus infection. *Neurochem Res* 6:691-697, 1981.
- 85- LIMA L., WALDER R., OBREGON F., DRUJAN B.: Serotonin turnover rate in raphe and cortex of mice infected with VEE virus. *J Neurosci Res* 4:428-434, 1987.
- 86- LONDON W.T., LEVITT N., KENT S., LONG V., SEVER J.: Congenital cerebral and ocular malformations induced in Rhesus monkeys by Venezuelan equine encephalitis virus. *Teratology* 16:285-296, 1977.
- 87- LYCKE E., ROOS B.E.: Effect on the monoamine metabolism of the mouse brain by experimental Herpes simplex infection. *Experientia* 24:687-689, 1968.
- 88- LYCKE E., ROOS B.E.: The monoamine metabolism in viral encephalitis of the mouse. II. Turn-

- over of monoamines in mice infected with Herpes Simplex Virus. *Brain Res* 44:603-613, 1972.
- 89- LYCKE E., ROOS B.E.: Influence of changes in brainmonoamine metabolism on behaviour of Herpes Simplex-infected mice. *J Neurol Sci* 22:277-289, 1974.
- 90- MANN D.M.A., TINKLER A.M., YATES P.O.: Neurological disease and Herpes simplex virus. *Acta Neuropathol (Berl)* 60:24-28, 1983.
- 91- MARTIN D.H., EDDY G.A., SUDIA W.D., REEVES W.C., NEWHOUSE V.F., JOHNSON K.M.: An epidemiologic study of Venezuelan equine encephalomyelitis in Costa Rica, 1970. *Am J Epidemiol* 95:572, 1972.
- 92- MARTIN D.H., DIETZ W.H., ALVAREZ O., JOHNSON K.M.: Epidemiological significance of VEE virus in vitro markers. *Am J Trop Med Hyg* 31:561-568, 1982.
- 93- McCONNELL S.: Venezuelan equine encephalomyelitis: past, present and future. *J Am Vet Med Ass* 161:1579-1583, 1972.
- 94- MECHAM J.O., TRENT D.W.: A biochemical comparison of the in vitro of a virulent and avirulent strain of Venezuelan encephalitis virus. *J Gen Virol* 64:1111-1119, 1983.
- 95- MILLER M.H., SCHERER W.F.: Venezuelan encephalitis viremia in hamsters and its relation to virus feedback from sentinel hamsters to mosquitoes in nature. *Am J Trop Med Hyg* 17: 776-780, 1968.
- 96- MONATH T.P., CALISHER C.H., DAVIES M., BOWEN G.S., WHITE J.: Experimental studies of rhesus monkeys infected with epizootic and enzootic subtypes of Venezuelan equine encephalitis virus. *J Inf Dis* 129:194-200, 1974.
- 97- MONLUX W.S., LUEDKE A.J.: Brain and spinal cord lesion in horses inoculated with Venezuelan equine encephalitis virus (epidemic American and Trinidad strain). *Am J Vet Res* 34:465-473, 1973.
- 98- MONTE S., DE LA, CASTRO F., BONILLA N.J., GASKIN A., HUTCHINS G.M.: The systemic pathology of Venezuelan equine encephalitis virus infection in humans. *Am J Trop Med Hyg* 34:194-202, 1985.
- 99- MORELAND A.F., GASKIN J.M., SCHIMPF R.D., WOODWARD J.C., OLSON G.A.: Effects of influenza, mumps and Western equine encephalitis viruses on fetal rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Teratology* 20:53-64, 1979.
- 100- MORELAND A.F., SCHIMPF R.D., GASKIN J.M.: Fetal malformations associated with experimental infections of Western equine encephalomyelitis vaccine virus in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Teratology* 20:65-74, 1979.
- 101- MORENO C.M., BONILLAE., HERNANDEZ H., SALAZAR M.: Fijación de 3H-GABA por el cerebelo de ratas infectadas con el virus de la encefalitis equina venezolana. *Invest Clín* 25:199-202, 1984.
- 102- NEGRETTE A.: Encefalitis equina venezolana. Fórmula leucocitaria relativa. *Invest Clín* 9(25):53-65, 1968.

- 103- NEGRETTE A.: Encefalitis equina venezolana. Leucocitos vacuolados. *Invest Clín* 9(26):97-107, 1968.
- 104- NEGRETTE A., MOSQUERA J.: Encefalitis epidémica durante 1959 en Maracaibo (San Francisco) Zulia state, Venezuela. Clinical manifestations and antibiotic therapeutics. *Invest Clín* 15:11-44, 1974.
- 105- NEWCOMBE J., GRAHAM S., CUZNER M.D.: Serum antibodies against central nervous system proteins in human demyelinating disease. *Clin Exp Immunol* 59:383-390, 1985.
- 106- PERRY T.L.: pp. 356-374 in R. Huxtable & A. Barbeau (eds) TAURINE Raven Press, N.Y., (1975).
- 107- PRUSLIN F.H., RODMAN F.C.: Venezuelan encephalitis virus: in vivo induction of a chromosomal abnormality in hamster bone marrow cells. *Infect Immun* 19:1104-1106, 1978.
- 108- RABINOWITZ S.G., ADLER W.D.: Host defenses during primary Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection in mice. I. Passive transfer and protection with immune serum and immune cells. *J. Immunol* 110:1345-1353, 1973.
- 109- RABINOWITZ S.G., PROCTOR R.A.: In vitro study of anti-viral activity of immune spleen cells in experimental Venezuelan equine encephalomyelitis infection in mice. *J Immunol* 112:1070-1081, 1974.
- 110- RASMUSSEN T.: Further observations on the syndrome of chronic encephalitis and epilepsy. *Appl Neurophysiol* 41:1-12, 1978.
- 111- RAYFIELD E.J., GORELKIN L., CURNOW R.T., JAHRLING P.B.: Virus-induced pancreatic disease by Venezuelan equine encephalitis virus. Alteration in glucose tolerance and insulin release. *Diabetes* 25:623-631, 1976.
- 112- RAYFIELD E.J., SATO Y., GOLDBERG S.L., SCHULMAN R.H., WALKER G.I.: Venezuelan encephalitis virus-induced alteration in carbohydrate metabolism in genetically diabetic mice. *Diabetes* 28:799-803, 1979.
- 113- RAYFIELD E.J., SATO Y., WALSH S., McEVOY R.C.: Virus induced alteration in insulin release in hamster islets of Langerhans. *J Clin Invest* 68:1172-1181, 1981.
- 114- RICO-HESSE R., ROEHRIG J.T., TRENT D.W., DICKERMAN R.W.: Genetic variation of VEE virus strains of the ID variety in Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 38:195-204, 1988.
- 115- ROBERTS E.D., SAN MARTIN-BARBERIC., PAYAN J., MCKENZIE R.B.: Neuropathologic changes in 15 horses with naturally occurring VEE. *Am J Vet Res* 31:1223-1229, 1970.
- 116- ROSSI A.L.B.: Rural epidemic encephalitis in Venezuelan caused by a group A arbovirus (VEE). *Prog Med Virol* 9:176-203, 1967.
- 117- RYDER S.: Anticuerpos contra encefalitis equina venezolana en la población del estado Zulia, Venezuela, 1967. *Invest Clín* 39:37- 51, 1971.
- 118- RYDER S., SCHERER W.F.: Transmisión de cepas suramericanas del virus de la encefalitis equina venezolana por mosquitos *Aedes aegypti*. *Invest Clín* 18:158-170, 1977.
- 119- RYDER E., RYDER S.: Human Venezuelan equine encephalitis virus infec-

- tion and diabetes in Zulia State, Venezuela. *J Med Virol* 11:327-332, 1983.
- 120- SANMARTIN-BARBERI C., GROOT H., OSORNO-MESA E.: Human epidemic in Colombia caused by the Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Am J Trop Med Hyg* 3:283-293, 1954.
- 121- SCHEID W.: TRATADO DE NEUROLOGIA. Ed. Alhambra, Madrid, España. p. 447, 498-501, 1969.
- 122- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W., JORDAN E.K., SAIDI S., ZARATE M.L., VENTURA A.K.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis en southeastern Mexico. II. Prevalence and geographic and temporal distribution of virus measured by sentinel hamsters and mice. *Am J Trop Med Hyg* 20:740-753, 1971.
- 123- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W., DIAZ A., WARP B.A., MILLER M.H., SCHAFFER P.A.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in south-eastern Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 20:969-979, 1971.
- 124- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W., LaFIANDRA L.P., WONG-CHIA C., TERRIEN J.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico. IV. Infections of wild mammals. *Am J Trop Med Hyg* 20:980-988, 1971.
- 125- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W., CAMPILLO-SAINZ C., ZARATE M.L., GONZALEZ E.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in south-eastern Mexico. V. Infection of domestic animals other than equines. *Am J Trop Med Hyg* 20: 989-993, 1971.
- 126- SCHERER W.F., CAMPILLO-SAINZ C., MUCHA-MACIAS J., DICKERMAN R.W., WONG-CHIA C., ZARATE M.L.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico. VII. Infection in man. *Am J Trop Med Hyg* 21:79-85, 1971.
- 127- SCHERER W.F., ELSWORTH C.A., VENTURA A.K.: II. Growth and adsorption curves of virulent and attenuated strains of Venezuelan encephalitis virus in cultured cells. *Am J Pathol* 62:211-219, 1971.
- 128- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico. VIII. Correlations and conclusions. *Am J Trop Med Hyg* 21:86-89, 1972.
- 129- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W., ORDOÑEZ J.V., SEYMOUR III C., KRAMER L.D., JAHRLING P.B., POIWERS C.D.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus and isolations of Nepuyo and Patois viruses during 1968-73 at a marsh habitat near the epicenter of the 1969 outbreak in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 25:151-162, 1976.
- 130- SCHERER W.F., CHIN J.: Responses of guinea pigs to infections with strains of Venezuelan encephalitis virus, and correlations with equine virulence. *Am J Trop Med Hyg* 26:307-312, 1977.
- 131- SCHERER W.F., CHIN J., ORDOÑEZ J.V.: Further observations on infections of guinea pigs with Venezuelan encephalitis virus strains. *Am J Trop Med Hyg* 28:726-728, 1979.

- 132- SCHERER W.F., CUPP E.W., LOK J.B., BRENNER R.J., ORDOÑEZ J.V.: Intestinal threshold of an enzootic strain of VEE virus in *Culex* (*Melanoconion*) *taeniopus* mosquitoes and its implications to vector competency and vertebrate amplifying hosts. *Am J Trop Med Hyg* 30:862-869, 1981.
- 133- SCHERER W.F., CUPP E.W., DZIEM G.M., BRENNER R.J., ORDOÑEZ J.V.: Mesenteronal infection threshold of an epizootic strain of Venezuelan encephalitis virus in *Culex taeniopus* mosquitoes and its implications to the apparent disappearance of this virus strain from an enzootic habitat in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 31:1030-1037, 1982.
- 134- SCHERER W.F., DICKERMAN R.W., CUPP E.W., ORDOÑEZ J.V.: Ecological observations of Venezuelan encephalitis virus in vertebrates and isolation of Nepuyo and Patois viruses from sentinel hamsters at pacific and atlantic habitats in Guatemala (1968-1980). *Am J Trop Med Hyg* 34:790-798, 1985.
- 135- SELLERS R.F., BERGOLD G.H., SUAREZ O.M., MORALES A.: Investigations during Venezuelan equine encephalitis outbreaks in Venezuela, 1962-1964. *Am J Trop Med Hyg* 14:460-469, 1965.
- 136- SEVER J.L., LONDON W.T.: Viruses and embryos. *Teratology* 2:39- 46, 1969.
- 137- SEYMOUR C., DICKERMAN R.W.: Venezuelan encephalitis virus infections in neotropical bats. I Natural infection in a guatemalan enzootic focus. *Am J Trop Med Hyg* 27:290-296, 1978.
- 138- SEYMOUR C., DICKERMAN R.W.: Venezuelan encephalitis virus in neotropical bats. III. Experimental studies on virus excretion and non-arthropod transmission. *Am J Trop Med Hyg* 27:307-312, 1978.
- 139- SEYMOUR C., DICKERMAN R.W., MARTIN M.S.: Venezuelan encephalitis virus infection in neotropical bats. II. Experimental infections. *Am J Trop Med Hyg* 27:297-306, 1978.
- 140- SIDWELL R.W., GEBHARDT L.P., THORPE B.D.: Epidemiological aspects of Venezuelan equine encephalitis virus infections. *Bacteriol Rev* 31:65-81, 1967.
- 141- SOTO-ESCALONA A., FINOL L.T., RYDER S.: Estudio de un brote de encefalitis venezolana en el Distrito Páez, Edo. Zulia, en octubre de 1968. *Invest Clin* 10(31):45-57, 1969.
- 142- SOTO-ESCALONA A., BLITZ-DORFMAN L., RYDER S., MACHADO H.: Encefalitis equina venezolana. Estudio serológico en aves de la región guajira venezolana durante un brote epidémico. *Invest Clin* 17:128-133, 1976.
- 143- SPENCE L.: Viral meningoencephalitis, definition and clinical features. In *ARBOVIRAL ENCEPHALITIS IN ONTARIO WITH SPECIAL REFERENCE TO St. LUOIS ENCEPHALITIS*. By The Committee on programs for the prevention of mosquito-borne encephalitis, M.S. Mahdy, L. Spence & J.M. Joshua (eds), pp. 20 (1979).
- 144- SPERTZEL R.O., CRABBS C.L., VAUGHN R.E.: Transplacental transmission of Venezuelan equine en-

- cephalomyelitis virus in mice. *Infect Immun* 6:339-343, 1972.
- 145- SUIDIA W.D., LOD R.D., NE-WHOUSE V.F., MILLER D.L., KISSLING R.E.: Vector-host studies of an epizootic of VEE in Guatemala 1969. *Am J Epidemiol* 93:137-143, 1971.
- 146- TASKER J.B., MIESSE M.L., 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.
- 147- VICTOR J., SMITH D.G., POL-LACK A.D.: The comparative pathology of Venezuelan equine encephalomyelitis. *J Infect Dis* 98:55-66, 1956.
- 148- WALDER R., BRADISH C.J.: Venezuelan equine encephalomyelitis: strain differentiation and the specification of virulence markers. *J Gen Virol* 26:265-275, 1975.
- 149- WALDER R., BRADISH C.J.: Multifactorial specification of virus-host interactions: studies with strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in mice. *J Gen Virol* 44:373-382, 1979.
- 150- WALDER R., SUAREZ O., CAL-ISHER C.H.: Arbovirus studies in southwestern Venezuela during 1973-1981. II. Isolation and further studies of Venezuelan and Eastern equine encephalitis, Una, Inaqui and Moju viruses. *Am J Trop Med Hyg* 33:483-491, 1984.
- 151- WALDER R., SUAREZ O., CAL-ISHER C.H.: Arbovirus studies in the Goajira region of Venezuela: activities of Eastern equine encephalitis and VEE viruses during and interepizootic period. *Am J Trop Med Hyg* 33:699-707, 1984.
- 152- WALKER D.H., HARRISON A., MURPHY K., FLEMISTER M., MURPHY F.A.: Lymphoreticular and myeloid pathogenesis of Venezuelan equine encephalitis in hamsters. *Am J Pathol* 84:351-362, 1976.
- 153- WALLACE S., ZEALLEY H.: Neurological, electroencephalographic and virological finding in febrile children. *Arch Dis Chil* 45:611-623, 1970.
- 154- WALTON T.E., JOHNSON K.M.: Epizootiology of VEE in the americas. *J Am Vet Med Assoc* 161:1509-1515, 1972.
- 155- WEAVER S.C., SCHERER W.F., CUPPE W., CASTELLO D.A.: Barriers to dissemination of Venezuelan encephalitis viruses in the middle american enzootic vector mosquito *Culex (Mel) taeniopus*. *Am J Trop Med Hyg* 33:953-960, 1984.
- 156- WEIBE M.E., PEICK W.J., SCHERER W.F.: Marker characteristics of enzootic strains of Venezuelan encephalitis virus isolated before and after epidemics and equine epizootics in middle america. *Am J Epidemiol* 117:201-212, 1982.
- 157- WENGER F.: Hallazgos de anatomía patológica en la reciente epidemia de encefalitis equina venezolana. *Invest Clin* 4(7):21-45, 1963.
- 158- WENGER F.: Necrosis cerebral masiva del feto en caso de encefalitis equina venezolana. *Invest Clin* 8(21):13-31, 1967.
- 159- WENGER F.: Venezuelan equine encephalitis. *Teratology* 16:359-362, 1977.

- 160- WENGER F.: Venezuelan equine encephalitis: its relation to severe cerebral malformations. *Teratogen Update*, p. 107-111 (1986).
- 161- WOODMAN D.R., McMANUS A.T., EDDY G.A.: Extension of the mean time to death of mice with lethal infection of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by antithymocyte serum treatment. *Infect Immun*, 12:1006-1011, 1975.
- 162- WURTMAN R.J.: In *NUTRITION IN THE 20th CENTURY*, pp: 103-112. Winick, M. (ed). Wiley, N.Y. (1984).
- 163- YOUNG N.A., JOHNSON K.M.: Antigenic variants of Venezuelan equine encephalitis virus: their geographic distribution and epidemiologic significance. *Amer J Epidemiol* 89:286-307, 1969.
- 164- ZARATE M.L., SCHERER W.F.: Contact-spread of Venezuelan equine encephalomyelitis virus among cotton rats via urine or feces and the naso-oropharynx. A possible transmission cycle in nature. *Am J Trop Med Hyg* 17: 894-899, 1968.
- 165- ZARATE M.L., SCHERER W.F.: A comparative study of virulences, plaque morphologies and antigenic characteristics of Venezuelan encephalitis virus strains. *Amer J Epidem* 89:489-502, 1969.
- 166- ZIVIN L.: Acute viral infections of the central nervous system manifested as psychoses. *Am Acad Gen Pract* 31:107-118, 1965.
- 167- ZLOTNIK I.: The reaction of astrocytes to acute virus infections of the central nervous system. *Brit J Exp Pathol* 49:555- 564, 1968.
- 168- ZURBRIGEN A., VANDEVELDE M., BOLLO E.: Demyelinating, non-demyelinating and attenuated canine distemper virus strains induce oligodendroglial cytolysis in vitro. *J Neurol Sci* 79:33-41, 1987.