

DETECCION DE ANTICUERPOS AL VIRUS DE LA ENCEFALITIS
EQUINA VENEZOLANA EN EQUIDOS DE LOS DISTRITOS MARA
Y PAEZ DE LA GUAJIRA VENEZOLANA. 1984.
I. EVALUACION PREVACUNAL

Slavia RyJér*, Mario Pérez, José Avila***, Alfonso Briceño******

** Instituto de Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. **Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. ***Ministerio de Agricultura y Cría, Región Zuliana. ****Comisionaduría del Edo. Zulia, Departamento de Epidemiología.*

RESUMEN

Con el propósito de conocer el estado inmunológico de la población de equidos de los Distritos Mara y Páez de la Guajira Venezolana en relación al virus de la Encefalitis Equina Venezolana, fueron obtenidos entre mayo y junio de 1984, muestras de sangre de 236 equidos procedentes de los Distritos Mara (126) y Páez (110). Inmediatamente después fueron inoculados con 2 ml de la vacuna TC-83 (virus vivo modificado de encefalitis equina venezolana (EEV). Vecol/ Colombia). De las muestras procesadas (221), el 53% correspondió a equinos, el 43.6% asnales y 3,4% mulares. El 53% mostró títulos inhibidores de la hemaglutinación (IHA) mayores de 1:20 en la muestra previa a la vacunación a expensas principalmente de los animales con antecedentes de vacunación. La mayoría de los títulos IHA estuvieron entre 1:20 y 1:640. Se demostró que para ese año el 53% de la población de equidos del Distrito Mara y Páez, presentaban anticuerpos contra EEV.

INTRODUCCION

Es conocido el papel que ha desempeñado el virus de la encefalitis equina venezolana (EEV) en las numerosas epidemias que han ocurrido en el país. De las últimas, la más importante fué la de 1962, que comenzó en la zona norte de la Guajira y se extendió por toda la costa, hasta alcanzar el Estado Sucre en 1964, finalizando en 1966-67, en el Estado Bolívar (1, 2).

A partir de esa fecha se han reportado epidemias en diversas regiones del país, pero las de 1968 (11), 1969 (6), 1973 (5, 7), ocurridas todas en la zona norte de la Guajira, fueron las más investigadas. En todos estos eventos se reportaron altos porcentajes de morbilidad en équidos (5, 12). La última epidemia de EEV en humanos, se presentó en la Guajira en Octubre de 1973 (5, 7), la cual fué controlada eliminando al mosquito vector mediante fumigaciones y terapia en humanos, encontrándose 2 meses después, 37% de positividad. En animales el control se hizo vacunando a los équidos con la vacuna TC-83 (8).

La ocurrencia de brotes de EEV a partir de 1962, han revelado una periodicidad de 5 a 6 años, motivo por el cual Siger y col. y Ryder realizaron encuestas serológicas en la Guajira en équidos en 1980 y humanos en 1981.

La encuesta realizada por Siger y col. en 1980, en más de 400 equidos del Dtto. Páez, demostró un 87, 4% en équidos susceptibles (menores de 7 años), y 92, 5% en la población asnal (10). Otra encuesta realizada por Ryder en 1981 en niños menores de 7 años, en la Guajira, reveló que todas las muestras (550), eran negativas (9). Después del brote de 1973, el Ministerio de Agricultura y Cría, realizó una vacunación usando la vacuna TC-83 en el Estado Zulia (8), la cual no se continuó en forma sistemática, ni fue evaluada la campaña de vacunación. Los resultados de las encuestas de 1980 y 1981, hicieron que el MAC, estableciera una campaña oficial de vacunación en equidos de los distritos Mara y Páez.

En 1984 el MAC realiza una nueva campaña de vacunación con la TC-83 dirigida a los équidos de los Distritos Mara y Páez. Los animales fueron evaluados dos meses después de la vacunación, encontrándose solo un 65% de positividad (datos por publicar).

La forma más eficiente para controlar y/o prevenir los brotes de EEV consiste en vacunar a la población de equidos, protegiendo de esta manera, no solo a los equidos, sino indirectamente a los humanos. Si el brote ya está declarado, se completa esta medida con el control de los mosquitos

vectores, mediante fumigaciones. El propósito de este trabajo es reportar los resultados obtenidos en las muestras sanguíneas de equidos de los Distritos Mara y Páez, tomadas antes de la vacunación de 1984.

MATERIALES Y METODOS

Entre los meses de Mayo y Junio de 1984, fueron escogidos 236 equidos (126 del Distrito Mara y 110 del Distrito Páez), ubicados en diversas haciendas de estos Distritos de la Guajira Venezolana (muestras oportunistas), de las cuales solamente pudieron ser analizadas 121 en Mara y 100 en Páez. A cada animal se le hizo una historia completa que incluía edad, sexo, especie, dolencias anteriores y vacunaciones previas. Se tomó una muestra de sangre utilizando vacutainer e inmediatamente después fueron inoculados con 2 ml de la vacuna TC-83 (virus vivo atenuado de EEV, proveniente de los Laboratorios VECOL, Colombia), diluída en el momento de usarla y en frío. Los animales fueron identificados por corte de borla o por las características fenotípicas y número de historia.

Las muestras fueron trasladadas en frío (diariamente), al Laboratorio de Diagnóstico del MAC y almacenadas a 70°C bajo cero, hasta el momento de su utilización.

Para la evaluación de anticuerpos contra EEV, los sueros fueron analizados mediante las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (IHA), en el Laboratorio de Virología del Instituto de Investigaciones Clínicas (IIC), tratadas con Kaolin y eritrocitos de ganso (microadaptación del método de Clark y Casals (3), para eliminar los inhibidores que pudieran interferir en la prueba de IHA. El antígeno utilizado fue la cepa 867 (Guajira), perteneciente al complejo EEV, obtenido de un aislamiento de suero durante la epidemia de 1968 (11) y sometido a tratamiento con sacarosa acetona. Se consideraron positivos aquellos sueros con títulos de 1:20 ó más, obtenidos a través de las pruebas de IHA con 8 unidades hemaglutinantes de antígeno EEV.

Para el análisis de las muestras se establecieron tres grupos etarios, el primero (1-3 años), debido al reporte del virus silvestre de EEV y EEE por Walder y col en 1981, el segundo grupo (4-11), está conformado por equidos que no habían nacido para el momento del último brote de EEV reportado en la zona (1973); el tercer grupo (> 12 años), eran animales que habían nacido para el momento de este último brote.

Para las pruebas estadísticas se utilizaron las pruebas de correlación, de varianza y chi cuadrado.

RESULTADOS

Los títulos inhibidores de la hemaglutinación estuvieron comprendidos entre 1:20 y 1:640, encontrándose un predominio de títulos 1:20 a 1:160 en el Distrito Mara y de 1:20 a 1:80 en el Distrito Páez. Fig. 1.

En la Tabla I se presenta la distribución de las muestras tomadas por especie y sexo, en cada uno de los Distritos encuestados.

En la Tabla II se muestran los resultados obtenidos en las muestras procesadas los Distritos Páez (100), y Mara (121), distribuidos por especie y grupos etarios. La positividad en los equidos del Distrito Páez fue de 45%, mostrando la especie equina una positividad de 46,9%, mientras que en la especie asnal, predominante, la positividad fue de 44,6%; los mulares, representados solamente por 3 muestras, dieron un 33,3% de positividad.

Los valores de positividad encontrados en el grupo etario 1 fueron de 40,0%, 18,7% y 0,0% en equinos, asnales y mulares respectivamente, para un promedio de 25,9%. En el grupo etario 2, todas las especies y el promedio fue de 50,0%. El grupo etario 3 estuvo representado solo por 3 muestras de asnos, los cuales arrojaron un 100% de positividad. En todas las especies, así como en el total de equidos hubo un incremento de la positividad, proporcional con el aumento de la edad de los animales, encontrándose diferencia significativa ($p < 0,05$), tanto para equidos como para asnales.

En el Distrito Mara la especie predominante fue la equina, la cual mostró una positividad de 62,5%, 67,7%, 16,6% para los grupos etarios 1, 2, 3, respectivamente, mientras que los asnales mostraron 40,0%, 58,3%, 25,0%, para los tres grupos etarios. Los mulares solo mostraron positividad de 100% en las 2 muestras del grupo etario 2. Los valores de positividad por especie en este Distrito, fueron 63,1% (equinos), 51,5% (asnales), 50% (mulares), para un promedio de 59,5%. Estos resultados no mostraron una clara relación progresiva de aumento de positividad con el incremento de la edad. El grupo etario que mostró mayores porcentajes de positividad fue el de los animales con edades comprendidas entre 4-11 años, sin diferencias significativas con los animales de edades comprendidas entre 1 a 3 años, pero ambos grupos fueron diferentes ($p < 0,05$), del grupo etario igual o mayor de 12 años. Debe resaltarse el escaso número de muestras en este grupo.

Al comparar los resultados de ambos Distritos por especies, estos fueron diferentes ($p < 0,05$); en Páez no hubo diferencia entre equinos y asnales, mientras que en Mara si los hubo.



Fig. 1.- Distribución de los títulos serológicos en los Distritos Mára y Páez. 1984. Estos estuvieron repartidos entre 1:20 y 1:640. Predominando los títulos 1:20 y 1:60 en Mára y 1:20 y 1:80 en Páez.

TABLA I

**DISTRIBUCION NUMERICA DE LAS MUESTRAS TOMADAS POR ESPECIE, SEXO Y DISTRITO
EXPRESADO EN NUMERO Y PORCENTAJE. ESTADO ZULIA. 1984.**

ESPECIE	PAEZ						MARA					
	TOTAL		MACHOS		HEMBRAS		TOTAL		MACHOS		HEMBRAS	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Equina	38	34.3	21	28.0	17	48.5	87	69.0	50	67.5	37	71.1
Asnal	69	62.7	53	70.6	16	45.7	34	26.9	19	25.9	15	28.8
Mular	3	2.7	1	1.3	2	5.7	5	3.9	5	6.7	0	0.0
TOTAL EQUIDOS (110)			71	68.1	35	31.8	126		74	58.7	52	41.2

TABLA II

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD A ANTICUERPOS INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACION Y DISTRIBUIDOS POR ESPECIE Y GRUPOS ETARIOS. DISTRITO PAEZ Y MARA DE LA GUAJIRA VENEZOLANA ESTADO ZULIA. 1984.

DISTRITO PAEZ (100)				
GRUPOS ETARIOS	1	2	3	T
Especie	%	%	%	%
Equinos	40,0 (4/10)	50,0 (11/22)	0,0 (0/0)	46,9 (15/32)
Asnales	18,7 (3/16)	50,0 (23/46)	100,0 (3/3)	44,6 (29/65)
Mulares	0,0 (0/1)	50,0 (1/2)	0,0 (0/0)	33,3 (1/3)
TOTALES	25,9 (7/27)	50,00 (35/70)	100,0 (3/3)	45,0 (45/100)

DISTRITO MARA (121)				
GRUPOS ETARIOS	1	2	3	T
Especie	%	%	%	%
Equinos	62,5 (10/16)	67,7 (42/62)	16,6 (1/6)	63,1 (35/85)
Asnales	40,0 (2/5)	58,3 (14/24)	25,0 (1/4)	51,5 (17/33)
Mulares	100,00 (0/2)	100,00 (2/2)	00,0 (0/0)	50,00 (2/4)
TOTALES	52,1 (12/23)	65,9 (58/88)	20,0 (2/10)	59,5 (72/121)

() Positivos/probados

- Grupos etarios 1 = 1 a 3 años; 2 = 4 a 11 años; 3 = > 12 años; T = Total

La correlación de positividad por edad fue altamente significativa para el Distrito Páez ($r = 0,92$) y no significativa en Mara ($r = 0,08$).

La Tabla III muestra los patrones de frecuencia de anticuerpos en los equidos por grupos etarios, relacionados con las historias de vacunación en los Distritos Páez y Mara, indicando para el primero una positividad de 46,3%, 0,0%, 41,1% para vacunados (V), no vacunados (NV) y con vacunación desconocida (D) respectivamente, para un promedio global de 45,0%. Los valores de positividad encontrados en Mara fueron de 67,1%, 36,8%, 57,1%, para V, NV y D, para un promedio de 59,5%.

A pesar de que en el Distrito Páez el porcentaje de animales con historia de vacunación fue mayor (82,0%) que en Mara (55,4%), la positividad revela diferencias y son superiores en Mara. En Páez el número de animales no vacunados fue muy escaso, (solo una muestra), mientras que en Mara los no vacunados representaron el 15,7% del muestreo, y fueron los que presentaron una menor positividad. Los resultados por Distrito entre V así como también en los D de un mismo Distrito no tuvieron diferencias, en cambio si las hubo ($p < 0,01$), entre los NV frente a los V y D del Distrito Mara, en el cual también se encontró diferencia ($p < 0,05$), entre el 3er grupo etario frente a los de menor edad. En Páez, hubo menor porcentaje de positividad que en Mara y mostró relación proporcional con el aumento de la edad de los animales encuestados.

En la Tabla IV se muestran resultados obtenidos por especie e historia de vacunaciones por Distrito. En Mara fue encontrada una positividad total de 63,0% en equidos, 51,5% en asnales y 50,0% en mulares. Al observar los resultados en función de su historia de vacunación se comprobó que los que mostraron mayor positividad fueron los vacunados con 67,1%. Los no vacunados mostraron un 36,8% y los de historia de vacunación desconocida 57,1%. Los porcentajes del Distrito Páez para equinos, asnales y mulares fueron de 46,8%, 44,6% y 33,3% respectivamente, obteniéndose, al igual que en Mara, la mayor positividad para los V, 46,3%.

En ambos Distritos la especie de menor porcentaje fue la mular, dominando la especie asnal en Páez y la equina en Mara. Esta última reveló diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), entre V y NV; diferencia ($p < 0,05$) entre NV y D, y no presentó diferencias entre V y D.

La comparación de los totales en los 2 Distritos arrojó diferencia significativa ($p < 0,05$) entre V y entre D.

TABLA III

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD A ANTICUERPOS INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACION RELACIONADO CON LA HISTORIA DE VACUNACION Y GRUPOS ETARIOS POR DISTRITOS EN EQUIDOS DE LA GUAJIRA VENEZOLANA. ESTADO ZULIA. 1984.

DISTRITO PAEZ (100)				
GRUPOS ETARIOS	1	2	3	T
Vacunación	%	%	%	%
Vacunados	29,1 (7/24)	50,9 (28/55)	100,0 (3/3)	46,3 (38/82)
No vacunados	00,0 (0/0)	00,0 (0/1)	00,0 (0/0)	00,0 (0/1)
Vacunación	00,0	46,6	00,0	41,1
Desconocida	(0/2)	(7/15)	(0/0)	(7/17)
TOTALES	26,9 (7/26)	49,2 (35/71)	100,0 (3/3)	45,0 (45/100)

DISTRITO MARA (121)				
GRUPOS ETARIOS	1	2	3	T
Vacunación	%	%	%	%
Vacunados	71,4 (10/14)	69,3 (34/49)	25,1 (1/4)	67,1 (45/67)
No vacunados	33,3 (2/6)	50,0 (5/10)	00,0 (0/3)	36,8 (7/19)
Vacunación	0,0	65,5	33,3	57,1
	(0/3)	(19/29)	(1/3)	(20/35)
TOTALES	52,1 (12/23)	65,9 (58/88)	2,0 (2/10)	59,5 (72/121)

() Positivos/probados

Grupos etarios 1= 1 a 3 años; 2 = 4 a 11 años; 3 = 12 años; T = Total

TABLA IV

**ANTICUERPOS INHIBIDORES DE LA HEMAGLUTINACION RELACIONADA
POR ESPECIE E HISTORIA DE VACUNACION POR DISTRITOS EN EQUIDOS
DE LA GUAJIRA VENEZOLANA, EDO. ZULIA 1984.**

Especie	PAEZ (110)							
	POSITIVOS				PROBADOS			
	V	%	NV	%	D	%	T	%
Equinos	12/28	42,8	0/1	00,0	3,3	100,0	15/32	46,8
Asnales	25/51	49,0	-	00,0	4/14	28,5	19/65	44,6
Mulares	1/3	33,3	-	00,0	-	00,0	1/3	33,3
Equidos	38/82	46,3	0/1	0,0	7/14	50,0	45/100	45,0

Especie	MARA (121)							
	POSITIVOS				PROBADOS			
	V	%	NV	%	D	%	T	%
Equinos	37/59	62,2	4/10	40,0	12/15	80,0	53/84	63,0
Asnales	7/7	100,0	3/7	42,8	7/19	36,8	17/33	51,5
Mulares	1/1	100,0	0/2	100,0	1/1	100,0	2/4	50,0
Equidos	45/67	67,1	7/19	36,8	20/35	57,1	72/121	59,5

V: Vacunados

NV: No Vacunados

D: Vacunación desconocida

T: Totales

DISCUSION

Existen varios subtipos serológicos del virus EEV (13) y la demostración de un subtipo, especialmente por anticuerpos IHA, puede que no se haga en forma tan eficiente, si se usan antígenos de otros subtipos. Por otra parte, se conoce que se pueden presentar reacciones serológicas cruzadas en animales que han sido infectados por otros alfavirus que no pertenecen al complejo del virus de EEV. Sin embargo, el método de IHA es el más utilizado en encuestas serológicas de gran magnitud por ser metodológicamente muy práctico y rápido y confiable.

Además de los equidos, otros animales pueden ser infectados por los virus de EEV y Encefalitis equina del Este (EEE), tales como bovinos, ovinos, caprinos, caninos, etc.

Los únicos aislamientos de alfavirus en la región en estudio, conocidos hasta el momento, son virus pertenecientes al complejo de Encefalitis Equina Venezolana, cepas equicidas, aisladas durante las epizodemias de 1962, 1968 y 1973, y cepas silvestres de EEV (subtipos ID) y EEE aisladas de hamsters centinelas y mosquitos, en el Distrito Mara durante 1981 (14).

Una encuesta serológica realizada en Mara por Siger en 1982 (comunicación personal), posterior a los aislamientos de 1981, y después de una vacunación con vacuna bivalente contra EEV/EEE, en la región de los aislamientos, reveló ausencia de anticuerpos contra EEE en asnales, mulares, bovinos y ovinos de la zona, y solo se encontró positividad en los sueros de equinos en un 9%. Considerando que habían sido vacunados previamente, que no hubo reportes de mortalidad en equidos y la negatividad en las otras especies, se asume que el virus silvestre EEE, aislados de hamsters centinelas y mosquitos expuestos en la Guajira (Distrito Mara), probablemente no tuvo repercusión patológica e inmunológica en los equidos de la zona.

Por otra parte, los resultados obtenidos por Siger y colaboradores en la encuesta de 1980 (10), revelaron algunos títulos de anticuerpos altos frente a EEV, lo cual hacía pensar que el virus estaba activo en la zona, siendo confirmado con el aislamiento de cepas silvestres de EEV subtipo ID, aislados de hamsters y mosquitos de esa región (14), así como también por la presencia de anticuerpos contra EEV, encontrados en un bovino encuestado por Siger en 1982 en Mara (comunicación personal).

Encuestas serológicas realizadas por el Instituto de Investigaciones Veterinarias en la Guajira durante los años 1973, 1974, y 1980, con el propósito de obtener información del virus EEV, habiendo analizado tam-

bién las muestras frente al antígeno de virus EEE, no detectaron anticuerpos a este último virus (comunicación personal).

Sueros de 145 murciélagos capturados en los Distritos Colón y Mara, en 1976, resultaron negativos anticuerpos de EEV. De estos fueron analizados 137 frente a los antígenos de los virus EEE, y de Encefalitis Equina del Oeste (EEO), resultando también negativos (4).

Los resultados del análisis de los sueros en este trabajo revelan una frecuencia de anticuerpos al virus EEV, que puede ser atribuída, en su mayoría, o totalmente, a este agente. Se estima que la muestra del Distrito Mara está bien representada en el porcentaje de équidos en lo referente a historia de vacunación, así como también en cuanto a la especie predominante en el Distrito. En Páez, si bien la especie dominante es la asnal, se considera que dentro de la muestra está ligeramente elevado el porcentaje de equinos y con respecto a la historia de vacunación, el número de muestras de animales no vacunados, fue solamente del 1% (equinos), lo cual pudiera aceptarse como representativo del Distrito para equinos, por estar en fincas; pero es difícil aceptar como realidad del Distrito, un 78,5% de asnales vacunados y 0% de animales no vacunados, si se piensa en las características de la tenencia de los asnales en el mismo.

Los resultados y sus significancias ya fueron expresados. De los mismos se puede señalar que era necesaria la vacunación contra EEV en ese momento, especialmente si se considera lo sucedido en 1973, que aún cuando una encuesta serológica reveló que un 75,9% de los équidos de los Distritos Páez, Mara y Urdaneta, tenían anticuerpos al virus EEV, en Octubre del mismo año se hizo evidente una epizootemia por este agente con implicación de enfermedad y muerte en équidos (comprobado por aislamiento del virus) y casos humanos (5, 7).

Los mayores porcentajes de positividad por especie en ambos Distritos fueron encontrados en los equinos. Su análisis por grupos etarios no revela prácticamente diferencias, a excepción de los animales iguales a/o mayores de 12 años del Distrito Mara, los cuales fueron escasos en número. En consecuencia, esa mayor positividad probablemente pudiera ser atribuída a vacunaciones, ya que es la especie de mayor valor económico y aprecio por sus propietarios.

Al compararse los resultados obtenidos en 1984, con los de Siger en 1980 y 1982, se puede apreciar un incremento de positividad en las muestras de 1984, lo cual pudiera ser atribuído, en su mayoría, a los programas de vacunación oficial del MAC, que se iniciaron a partir de fines de 1980 en la región, sin dejar de señalar que un ligero porcentaje de positividad

puede estar representado por el desarrollo de anticuerpos, debido a la presencia de actividad viral del EEV subtipo ID, demostrado en la región (14).

Estos resultados indican que la campaña de vacunación contra EEV debe continuar en la Guajira, en ambos Distritos, dando mayor énfasis a los animales que no están en fincas, sabaneros y asnales, en el Distrito Páez.

Agradecimiento

A los médicos veterinarios Johane Padrón, Nelda Guanipa, Leticia Martínez, Nadia Urdaneta, Irama Sangronis, Sergio Valbuena, Luis Larreal y Técnicos del Ministerio de Agricultura y Cría, División Salud Animal, Región Zuliana, y a los capataces de las haciendas donde se efectuó la vacunación, por la colaboración prestada a la toma de muestras y vacunación. Al Director del Laboratorio Regional de Diagnóstico, donde se procesaron los sueros. Al Ministerio de Agricultura y Cría por facilitarnos la vacuna usada para las inmunizaciones. Al técnico Pedro Rangel por su ayuda técnica. A la Dra. Julieta de Siger por la exhaustiva revisión del manuscrito. Este trabajo fue financiado por CONDES-LUZ y CONICIT.

ABSTRACT

Venezuelan Equine Encephalitis. Antibodies detection in equidae from the Guajira Venezolana, Mara and Páez Districts. 1984. Prevacunal Evaluation. *Slavia Ryder (Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Apartado Postal 1151, Maracaibo Venezuela). Pérez M., Avila J., Briceño A. Invest Clín. 28(4): 181-195, 1987.* — With the purpose of evaluating the immunologic status of the equine population of Paez and Mara Districts in the Guajira Venezolana in relation of equine encephalitis virus, between May and June 1984, 236 equine (126 in Mara District and 110 in Paez District) were surveyed. A blood sample was taken from these animals to determine antibodies against Venezuelan equine encephalitis virus (EEV), and were immediately inoculated with 2ml of TC-83 vaccine (VECOL COLOMBIA). We found that of 221 samples processed, 53% were equine, 44% asnal, and 3% mule. Fifty three percent had titers above 1:20 on the sample previous vaccination, mostly due to animals with previous vaccines. The majorify of hemagglutination inhibitors titer (IHA) were between 1:20 and 1:640. Therefore we demonstrated that by 1984 the equine population of Districts Mara and Páez, 53% had antibodies against VEE, probably as a result of previous vaccinations.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1— AVILAN ROVIRA J.: El brote de encefalitis equina venezolana al norte del Estado Zulia a fines de 1962. *Rev Vlna SAS* 29: 253-321, 1964.

- 2- AVILAN ROVIRA J.M.: Epidemiología de las encefalitis en Venezuela según las estadísticas de mortalidad. Informe Especial. Departamento de Demografía y Epidemiología. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Caracas, Venezuela 1971.
- 3- CLARKE D.H., CASALS J.: Technique for hemagglutination and hemagglutination inhibition with arthropod borne viruses. *A J. Trop Med Hyg* 7: 561-573, 1958.
- 4- DICKERMAN R.W., RYDER S., MARTIN M.S.: Arbovirus studies of bats from Zulia State: serological survey for Venezuelan, Eastern and Western encephalitis virus antibodies. February 1976. *Invest Clín.* 18 (1): 63-68, 1977.
- 5- MAC KENZIE R.B., PARRA V.D., DE SIGER J., PEREZ B.M., PULGAR G.E.: Epizootia de encefalitis equina venezolana en Venezuela durante 1973; un estimado de infección y mortalidad. *Veterinaria Tropical Vol II* (1): 79-89, 1976.
- 6- RYDER S., FINOL L.T., SOTO ESCALONA A.: Encefalitis equina venezolana. Comentarios acerca de la epidemia ocurrida en el Estado Zulia, Venezuela a fines de 1969. *Invest Clín.* 13 (39): 52-63, 1971.
- 7- RYDER S., FINOL L.T., SOTO ESCALONA A.: Epizodemia de encefalitis equina venezolana en el Distrito Páez del Estado Zulia a fines de 1973. *Jornadas Veterinarias. Maracay* 1974.
- 8- RUIZ PADILLA L.A.: Vacunación contra encefalitis equina venezolana en equidos en el Estado Zulia. 18-11-73 al 06-07-74. Planilla de informes especiales del MAC 1974.
- 9- RYDER S.: Encefalitis equina venezolana. Evaluación de la inmunidad contra el virus en la población humana menor de 7 años en la Guajira venezolana, 1981. *Invest. Clín* 22(4): 213-220, 1981.
- 10- SIGER J., PEREZ B.M., PULGAR G.E.: Encuesta serológica en equidos del Distrito Páez, Edo. Zulia. 1980. I Reunión fronteriza Colombo-Venezolana. Maracaibo. Octubre 1981.
- 11- SOTO ESCALONA A., FINOL L.T., RYDER S.: Estudio de un brote de encefalitis equina venezolana en el Distrito Páez, Estado Zulia, en Octubre de 1968. *Invest. Clín.* 10(3): 45-57, 1969.

- 12- VILLEGAS D.M.: La encefalitis equina venezolana: su evolución y control en Venezuela. Mesa Redonda Internacional sobre Encefalitis equina tipo Venezuela-Méjico, 1971.
 - 13- YOUNG N.A., JOHNSON K.M.: Antigenic variants of Venezuela equine encephalitis virus; their geographic distribution and epidemiologic significance. Amer J. Epidemiol. 89: 286-307, 1969.
 - 14- WALDER R., SUAREZ Q.M., CALISHER C.H.H.: Arbovirus Studies in the Guajira region of Venezuela: Activities of Eastern Equine Encephalitis and Venezuelan equine Encephalitis viruses during an interepizootic period. Amer J. Trop Med Hyg 33(4): 699-707, 1984.
-