

## ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA EN COLOMBIA\*

### Revisión de Literatura

Guillermo González G.\*\*; Myriam Torres R.

#### INTRODUCCION

Dentro del género Alfa virus (grupo A) de la familia Togaviridae se encuentra la Encefalitis Equina Venezolana (EEV). Los que han sido separados en cuatro subtipos (conocidos con los números romanos I-II-III-IV) y dentro del subtipo I, representado por la cepa Trinidad, cinco variantes conocidas con las letras A, B, C, D, E. Los virus Mucambo y Pixuma son designados como subtipos III y IV respectivamente. Solamente las cepas I - A, B, C. producen regularmente encefalitis y

muerte en equinos, epidemiológicamente se reconocen como cepas epizoóticas; las restantes como cepas enzoóticas.

Bajo cualquiera de sus subtipos y variantes, la EEV se ha detectado en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Brasil, Países de Centro América, Méjico y la parte sur de E.U. Ciclos virales clínicamente silenciosos, en donde se involucra un roedor salvaje y un mosquito, han sido observados en Sur, Centro y Norte América. Solo con alguna periodicidad y bajo especialísimas condiciones, el virus deja éstos nichos y produce una epidemia.

\* Contribución del Programa de Enfermedades Infecciosas y Epidemiología del Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias LIMV-ICA.

\*\* Respectivamente: Médico Veterinario Zootecnista, Ph.D. y Bacterióloga M;S. Programa de Enfermedades Infecciosas y Epidemiología LIMV-ICA A.A. 29743, Bogotá, D.E. Colombia.

En las grandes epidemias la rata de mortalidad equina puede variar entre 40 y 80<sup>o</sup>/o, representando esto no solo pérdida económica por la muerte del animal, sino pérdida en transporte, producción y manejo de la pequeña y mediana explotación. Durante estos brotes, se ha venido observando implicaciones de la salud humana, incluyendo encefalitis y muerte en niños y ancianos. Estas observaciones jus-



tifican estudios intensos y continuados para intentar el control de la enfermedad.

#### PRIMEROS ESTUDIOS EN COLOMBIA

Albornoz (1) en 1935, reportó la presencia de la "Peste Loca", enfermedad en equinos que había sido observada en el Valle, Tolima, Huila y Bolívar; la misma entidad apareció en 1936, esta vez en los departamentos del Magdalena y Guajira (30).

Estudios detallados del agente causante de una enfermedad similar a la "Peste loca", fueron llevadas a cabo y reportadas en 1942 por Soriano y Figueroa (38). En estos estudios se describe el aislamiento del organismo a partir de una suspensión de corteza cerebral, cuerno de Ammon y cerebelo de un equino de la Sabana de Bogotá. La cepa fue mantenida por pases sucesivos en curí y remitida a Kubes, quien confirmó el diagnóstico como EEV (36). Recuento histórico de los brotes de la EEV en Colombia ha publicado Groot (10) y San Martín y Arbeláez (30) Tabla 1.

AÑO	PAIS	AUTOR	EVIDENCIA
1935	Colombia (Valle, Tolima, Huila y Bolívar).	Albornoz	Diagnóstico Clínico
1936	Colombia y Venezuela (Guajira y Magdalena)	Kubes y Ríos	Aislamiento del virus del caballo
1937	Colombia	Velásquez	Diagnóstico clínico
1938	Venezuela	Kubes y Ríos	Aislamiento del virus del caballo.
1941	Colombia (Bogotá)	Soriano y Figueroa	Aislamiento del virus de caballo.
1942	Colombia (Guajira), y Venezuela	Avilan	Diagnóstico clínico
1943	Colombia, Venezuela y Trinidad.	Tiggertt y Downs	
1946	Colombia, (Cerrito) Perú	Sanmartín et al	Aislamiento del virus de caballo.
1949	Venezuela, Guajira	Avilan	Diagnóstico clínico
1952	Colombia (Tolima)	Sanmartín et al	Aislamiento del virus de humanos.
1955	Colombia (San Vicente de Chucurí)	Groot	Aislamiento del virus de humanos.
1957	Colombia (San Vicente de Chucurí)	Groot	Aislamiento del virus de humanos.



## CONT. TABLA 1.

AÑO	PAIS	AUTOR	EVIDENCIA
1958	Colombia (Puerto Boyacá)	Groot	Aislamiento del virus de humanos y en mosquitos.
1959	Colombia (San Vicente de Chucurí)	Groot	Aislamiento del virus del mosquito
1960	Colombia (Barranca-bermeja)	Groot	Aislamiento del virus de ratones, centinelas
1961	Colombia (Utica)	Barel	Aislamiento del virus de caballos.
1962	Colombia (Guajira) y Venezuela	Sanmartín et al	Diagnóstico serológico
1963	Venezuela		
1964	Venezuela		
1965	Venezuela		
1966	Venezuela		
1966	Mexico (Tamaulipas)	Morilla, González	Diagnóstico serológico
1967	Colombia (Carmelo) y Panamá.	Sanmartín et al	Aislamiento del virus de caballos.
1968	Colombia, Venezuela (Guajira)		
1969	Venezuela, Perú, Ecuador Colombia, Guatemala, Salvador, Honduras, Nicaragua, México.		
1970	Colombia (Huila), Venezuela, Costa Rica, México	Del Aguila	Aislamiento de equinos
1971	Colombia, México, USA.		
1972			
1973	Colombia (Tolima)	INS	Diagnóstico serológico
1973	Colombia (Tolima)	INS	Aislamiento y serología en humanos.
1974			

Modificación a Groot en "The Health and Economic Impact of VEE" (10).

## EPIDEMIOLOGIA

En general la epidemiología de la infección está influenciada por:

- a) El comportamiento de los artrópodos vectores, a su vez influenciado por el hábitat, el rango de movilidad, los hábitos de alimentación y las especies preferidas para ella; su longevidad y los factores que afectan la ingestión, multiplicación o inoculación del virus del huésped artrópodo.
- b) La frecuencia, naturaleza, y duración de la exposición, de los huéspedes vertebrados al vector infectado, influenciada por la presencia, nivel y especificidad de inmunidad Humoral (y celular?).
- c) Los requerimientos para la presencia de huéspedes amplificadores vertebrados para el virus, tales como caballos, en epidemias humanas y roedores en infecciones equinas.

Desde los comienzos de la historia de la EEV en Colombia, la mayoría de los trabajos se han dirigido a conocer la distribución de la enfermedad en la población equina y de los factores que influyen en esa distribución.

### Vectores

Entre 1958 y 1960 en San Vicente de Chucurí, Santander, fueron aisladas cuatro cepas del virus de EEV, a partir de mosquitos; dos del género *Psorophora* y dos del género *Culex* (4,7). Durante la epidemia de 1967, en el Carmelo (Valle) se hicieron 49 aislamientos de 10 especies de mosquitos (34). En Atuncela (Valle),

11 aislamientos de 5 especies de *Simulium* y 8 aislamientos de mosquitos.

En la María (Valle), cuatro aislamientos de *Simulium exiguum*, *S. metallicum*, y *S. callidum* y dos de *Aedes sexlineatus* (34). En Providencia, Antioquia el virus se aisló de dos moscas de *Simulium exiguum* recolectados de un humano (43). En un brote ocurrido a fines de 1967 en el Tolima el virus fue aislado de *Psophora confinnis*. (18). Entre 1970 - 1971, el virus de EEV, (subtipo ID) se aisló de focos silvestres de Norte de Santander, Magdalena, Bolívar y Boyacá. En Puerto Boyacá, entre 1970 y 1976 se aisló de mosquitos (13).

### Reservorios

Durante la epidemia de 1967, en el Carmelo (Valle) el virus se aisló de *Didelphis marsupialis*, *Caluromys derbianus*, *Artibeus literatus*, *Rattus rattus*, *R. norvegicus*. Se encontraron anticuerpos en *Didelphis marsupialis* y en *Rattus norvegicus* (34). En 1968, en Casanare, se aisló de un *Proechymis semispinosus* y en Bogotá, a 2.700 m.s.n.m., tres aislamientos fueron hechos de roedores (*Thomasomys*) En piedemonte de la Cordillera Oriental se realizaron dos aislamientos a partir de roedores (24). En una zona del Meta, fué positivo por pruebas serológicas al virus de EEV, el 43% de *Proechymis* y solamente el 6% de otras especies de roedores mostraron anticuerpos (24). Entre ratas espinosas los anticuerpos tienden a aumentar con la edad, en igual proporción que los animales domésticos de áreas endémicas. Esta correlación sugiere que los *Proechymis* mantienen el ciclo endémico en este lugar (24).



Entre 1970, y 1971, en Puerto Boyacá, se encontraron anticuerpos en *Proechymis hendei* y *P. guyannensis*, *Didelphys marsupialis* y *Metachirus sp.* (13). En el Huila, (3) no se encontraron anticuerpos en los marsupiales y roedores capturados. Sin embargo, estudios experimentales simultáneos donde se inocularon *Zygodontomys brevicauda* y *Sigmodon hispidus* por vía subcutánea, se hallaron anticuerpos específicos pero no se observó signo alguno de enfermedad indicando de esta forma que no se sabe el papel que juegan en la epidemiología de la enfermedad.

#### Anticuerpos y Aislamientos de Equinos y Bovinos:

En equinos la manifestación clásica más común de infección con EEV, es el desarrollo de anticuerpos específicos, aunque esta característica no se presente en un 100% de los casos. En el Carmelo (Valle), durante la epidemia de 67, enfermó el 43%, y desarrollaron anticuerpos el 89% (34).

La Infección en bovinos no estimula el desarrollo de síntoma alguno, sin embargo sí induce el desarrollo de anticuerpos. El grado de desarrollo de anticuerpos con relación a la cepa viral actuante (ó vacunal), es desconocido. Sin embargo, se ha observado que en zonas endémicas y epidémicas el porcentaje de bovinos con anticuerpos es inferior al de equinos (24). Las variadas razones de este fenómeno son para nosotros desconocidas, sin embargo, los bovinos se han usado como indicadores de actividades virales en zonas donde se vacunan los equinos. No hay estudios o reportes sobre encuestas serológicas en estas dos especies, antes del brote

del 67-68. Al finalizar la primera semana del brote, en el Carmelo (Valle), los resultados serológicos mostraron que el 89% de los equinos estudiados habían desarrollado anticuerpos por III.

Con el fin de conocer la extensión del brote de 1967 y simultáneamente la distribución de anticuerpos contra EEV en el país, se realizaron en el LIMV\* estudios serológicos en equinos y bovinos. Se tomaron muestras en los departamentos de Santander, Boyacá, Meta, Atlántico, Tolima, Magdalena, Cesar y Córdoba (24); Los resultados de las investigaciones realizadas dan una clara impresión de que las ratas de infección llegan a ser mayores a medida que se avanza hacia el norte del país desde el departamento de Santander, y que las ratas son significativamente mayores entre animales que viven cerca de las riberas del río Magdalena. También se tiene la impresión de que, por la distribución de anticuerpos en equinos, fueron afectados por igual en todas las edades y de que previamente ellos tenían muy pocos anticuerpos con títulos más bajos en animales viejos.

Mientras que el cuadro anterior indica una epidemia extensiva entre poblaciones equinas en su mayoría susceptibles del Magdalena bajo, la situación a 240 kms. al sur del país, cerca de Puerto Berrío y Barrancabermeja, fué muy diferente. A alturas menores de 400 Mts. pareció que había existido un aumento gradual de infección entre caballos, alcanzando máxima prevalencia entre animales de 5 a 8 años.

\* Laboratorio de Investigaciones Médico Veterinarias.



Los datos sobre bovinos obtenidos en Cereté (Córdoba), en diciembre de 1968, mostraron la existencia de un incremento en la frecuencia de anticuerpos neutralizantes con la edad; este hecho sugiere una continua e intermitente exposición en el transcurso de los años. Del estudio de sueros de terneros (menores de un año), se confirma que los anticuerpos maternos desaparecen en forma constante, con el tiempo. La presencia de anticuerpos en equinos y bovinos de Casanare, implica que el virus había estado activo allá, aunque sin epidemia aparente.

El hecho de hallar anticuerpos en bovinos y equinos de Maní y Roscador (Boyacá), sugiere que hubo una amplia actividad endémica a lo largo de piedemonte de la cordillera Oriental. Es probable que esta actividad viral se extendiera en los bosques de galería a lo largo de los ríos hasta el llano mismo.

Para tener una información real de la existencia y magnitud del brote, se realizó también una encuesta serológica en el Valle del alto Magdalena, Valle del Patía y Costa Atlántica. Se probaron 1.817 sueros humanos y 1.588 sueros equinos por medio de la prueba IH. Los resultados fueron agrupados por departamentos. A los departamentos de la zona norte correspondió un 84<sup>o</sup>/o, mientras que para los del interior un 51<sup>o</sup>/o. Todos los hallazgos demuestran más alta prevalencia de anticuerpos en equinos que en humanos y reafirman marcada actividad de EEV, en áreas afectadas.

En 1968, se llevó a cabo un estudio en tres regiones del noroeste de Antioquia; llanura costera, valle montañoso y altiplano, en equinos, bovinos, porcinos y hu-

manos, demostrando la evidencia de infección (4), en equinos y mulas la prevalencia fue mayor 50<sup>o</sup>/o que en el altiplano 18<sup>o</sup>/o. Para bovinos la prevalencia de anticuerpos fue igual en las tres zonas estudiadas. (19 a 21<sup>o</sup>/o).

Más tarde en Septiembre de 1970, se presentó una epidemia de "Peste Loca", en el sur del departamento del Huila, del Aguila (3), hizo un estudio retrospectivo de la epidemiología en áreas rurales del Suaza, Guadalupe, Altamira y Timará. Se sangraron equinos y bovinos; las pruebas serológicas en bovinos demostraron anticuerpos para EEV. Los resultados serológicos en equinos sugieren que estos se infectan con el virus en sitios diferentes del Valle de Suaza, posiblemente en las cordilleras vecinas o en pequeñas zonas endémicas, quizás selváticas, hacia las cuales se movilizan los equinos, esto explicará los casos específicos de "Peste loca". A pesar de los aislamientos, no se pudo determinar el mecanismo de transmisión.

Estudios serológicos realizados en bovinos (2), en Riohacha y Uribia (Guajira) en 1971, arrojaron un 2<sup>o</sup>/o de positividad, y los realizados entre 1970 y 1976 en equinos asintomáticos de la zona de Puerto Boyacá, una positividad del 60<sup>o</sup>/o (13).

Un año después de la vacunación masiva de 1976, se comenzó una encuesta serológica para conocer el porcentaje de los animales que había desarrollado anticuerpos y el estado general de inmunidad de la población equina. Paralelamente se estudiaron sueros bovinos que sirven como indicadores de acción viral en su respectiva zona (12). Los resultados preliminares nos mostraron que el 39<sup>o</sup>/o de los



equinos y un 36% de los bovinos del país, tenían anticuerpos. En este mismo trabajo se está detectando actividad viral contra los virus de EEE y EEO mediante serologías realizadas con los mismos sueros de los equinos.

#### Aislamiento

Se ha observado mayor susceptibilidad de los equinos sobre los mulares al virus de la EEV. En términos generales, luego de una infección de un equino con EEV, a las 24 horas se presenta una virémia que dura aproximadamente 24 a 96 horas, período en el cual el animal no presenta signo de enfermedad. Se ha aislado el virus con más frecuencia de equinos asintomáticos.

#### Aislamientos y Síntomas en Humanos:

En 1952, en el Espinal (Tolima), se presentó una enfermedad en humanos caracterizada por fiebre corta y benigna (28). El cuadro clínico presentó un desarrollo rápido con malestar, escalofríos, fiebre, náuseas, dolor de cabeza, dolor muscular y artralgia. La fiebre duraba de 24 a 96 horas. El virus de EEV se aisló de dos pacientes durante el ataque agudo. Altos títulos de anticuerpos NT fueron encontrados en 10 personas sangradas después de presentar signos clínicos. Se demostraba por primera vez que el virus era capaz de originar epidemias humanas bajo condiciones naturales.

En 1955, el virus fue recobrado del suero de un residente del fondo del valle de Chucurí, que sufría de una enfermedad febril sin síntomas de encefalitis. Un segundo aislamiento similar tuvo lugar en 1957 (6). A fines de 1962, se presentó

una epidemia de EEV en la Guajira, de 18 personas que presentaban síntomas de la enfermedad, se aisló el virus de 17 de ellas (8).

Durante la epidemia de 1967, en el Carmelo, el 20% de la población humana se infectó, de ellas la mitad no presentó síntomas de la enfermedad (16). De 269 enfermos agudos se pudo aislar el virus de 133 (34). En Atuncela de 9 hombres (tres niños y seis adultos) se aisló el virus. En la María, se aisló de un niño que tenía fiebre y que hacía parte de un grupo también de niños que había sufrido una enfermedad muy similar a la gripa (34).

A fines de 1967 ocurrió un brote en varios municipios del Tolima. La región estaba dedicada a cultivos de arroz y explotación de ganadería pero debido a las intensas lluvias los criaderos de mosquitos habían aumentado.

Se notificaron 216 casos humanos, de los cuales 123 eran hombres y 93 mujeres, presentaron síntomas clínicos de leve a mediana intensidad, no hubo defunciones. Se tomó suero y exudados faríngeos. Se aislaron 47 cepas (18).

Aunque no se observaron muertes entre humanos, se obtuvieron títulos en sueros entre  $10^{0.4}$  y  $10^{1.3}$  por 0.1 ml. Estos títulos decrecieron con la evolución de la enfermedad. En las zonas rural y urbana, se logró establecer que la distribución de la enfermedad es paralela con la edad y que no hay relación con el sexo (34).

Observaciones realizadas por Prías en 1971, sobre las manifestaciones y diag-



nóstico clínico en humanos, indican que en caso de infección el diagnóstico clínico podría confundirse con la Influenza (cuadro febril indefinido) o por la sintomatología del sistema digestivo, con enteritis epidémica (22);

En caso de infección accidental, el período de incubación es de 40 a 72 horas y en infecciones naturales de tres a cinco días. En la epidemia de 1962, en la Guajira, se describieron tres presentaciones clínicas:

*Beninga:* Caracterizadas por hiperte-mia, náuseas y ligero malestar, con recuperación rápida.

*Moderada:* Con aumentos de temperatura a 39°C y 40.5°C Hipotensión y astenia, (convalecencia prolongada). En fase aguda, cofalea, neuralgia, disturbios gastrointestinales, vómito, náuseas, constipación, amigdalitis, anorexia, somnolencia, mialgias, dolores retroorbitales y disfagia.

*Sobreaguda:* Con hipertemia hasta 12 días, trastornos psíquicos y neurológicos, coma.

Más tarde en 1973 y 1974, el virus fué aislado de humanos en Lozania (Tolima) y en 1976, esta cepa fué clasificada como 1D (13).

#### Anticuerpos en otras especies:

Estudios sobre el papel de otras especies, animales, de posible juego en la ecología de la enfermedad o que por su estrecha relación con humanos sugieren importancia en salud pública, han sido esporádicos y limitados. En caninos después del

brote del 67-68 en el Carmelo, se encontraron porcentajes de anticuerpos que alcanzaron un 64% (34), y en el brote de Lozania (Tolima), alcanzaron un total de 65% (13). En aves, los porcentajes de anticuerpos reportados han sido menores; en Providencia, (Antioquia), Zuluaga (43) ha reportado un 8%, en el Carmelo, San Martín (34), un 14%. En otros trabajos se ha reportado el aislamiento del virus en aves, *Jacana jacana* y *Otus choliva* (34).

En el brote de Atuncela, dos de cuatro aves estudiadas mostraron anticuerpos de IH (34), sin embargo, los aislamientos en el mismo pueblo sobre 201 aves fueron negativos. En porcinos se encuentran anticuerpos IH en un 70% durante las encuestas serológicas de 1968 (34). También en Antioquia, se ha reportado presencia de anticuerpos en porcinos así: en el altiplano 34% y en el valle 18% (41); en sueros de 16 caprinos estudiados en Atuncala al finalizar la epidemia no se pudo aislar el virus de la EEV, pero se demostraron anticuerpos específicos en cuatro de ellos con títulos entre 1:20 y 1:320 (34). Se han reportado estudios sobre el desarrollo de anticuerpos y virémias en cabras bajo condiciones de laboratorio: en el reporte de San Martín (24), los caprinos desarrollaron anticuerpos y virémias de títulos inferiores a 1.0 logaritmo. En el estudio de Cotes, (2), sobre ovinos y caprinos, se observó una ausencia de signos de enfermedad sin desarrollo de virémia, pero sí de anticuerpos.

Los porcentajes de anticuerpos encontrados en mamíferos, murciélagos, en Providencia, Antioquia, (43), fue aproximadamente igual (10%) que el de los mamíferos roedores (14%), y mayor que el de marsupiales (8%). Dentro de los



murciélagos, el de Jamaica, *Artibeus jamaicensis* (frugívoro) tuvo una prevalencia mayor (29%) que el *Carollia perspicillata* (8%) (43). Existe alguna evidencia sobre el posible papel de los murciélagos en el mantenimiento y propagación del virus de la EEV realizados en Colombia; San Martín reporta aislamientos del virus a partir de murciélago durante epizootia (32) y otros experimentos donde se recobre el virus de la cavidad bucal de un vampiro infectado experimentalmente después de 168 horas de infección (34).

Conejos domésticos sufrieron una alta mortalidad durante la epizootia de El Carmelo, siendo el virus aislado de un animal enfermo (34). El hamsters (*Crisetus auratus*), ha sido usado en pruebas de laboratorio (24) y como indicador de actividad viral en el campo ya sea por aislamiento del virus, (31) o por desarrollo de anticuerpos específicos (31, 34).

## ESTUDIOS EXPERIMENTALES

### Transmisión

Siendo la Guajira una zona donde la enfermedad se presentaba con mucha frecuencia y la existencia de un gran número de caprinos en esa región, se quiso conocer el posible papel de ellos en la presencia y mantenimiento de brotes. Los resultados de experimentación indican que a los tres días post-inoculación, las cabras presentan virémias, aunque en ningún momento superiores a un logaritmo, todos los animales, inoculados presentan anticuerpos IH con máximos títulos a los 14 días (24).

En vista de que el virus de EEV, había sido aislado de *Simulium sp.*, se estudió la

posibilidad de replicación del virus y la factibilidad de transmitirlo a animales susceptibles (42). A los ocho días después de infectar las moscas se alimentan sobre cobayos, hamsters ó ratones lactantes no habiéndose enfermado estos animales. Se encontró que las moscas ingirieron el virus, el cual persistió entre 10 y 24 días post-inoculación, la mayoría mostró pérdida del título viral entre 2 y 5 días. Los autores sugieren que el *Simulium mexicanum*, no actúa como vector biológico de EEV.

La transmisión de la EEV entre hamsters inoculados experimentalmente y que viven en una misma caja ha sido comprobada, no así, entre ratones bajo idénticas condiciones de infección y cohabitación (24).

### Patología

Rave y Morales (23), estudiaron la respuesta hematológica y térmica en tres asnos y dos caballos inoculados con una cepa virulenta de EEV. Se observó aumento de temperatura en todos los animales 12 y 24 horas después de ser inoculados, con lecturas normales en el momento de la muerte.

En los burros se observó leucopenia, con linfopenia, neutropenia y eosinopenia, difiriendo un poco de los caballos que presentaron leucopenia, sin compromiso de ningún tipo celular. El índice icterico y de bilirrubina fueron sub-normales en la fase final, no así, el nitrógeno uroico el cual después de presentar niveles subnormales mostró un marcado incremento en los burros.

Se estudió la distribución de virus de la EEV en equinos vacunados y luego reta-



dos con virus virulento (20). Se utilizó la técnica de inmunofluorescencia y se comparó con el aislamiento en ratones. La mejor visualización del virus se obtuvo en cerebro, hígado y glándula sublingual, confirmando su distribución pantrópica. El virus fue aislado de suero (24 y 48 horas post-descarga) de cerebro, hígado, páncreas, ganglio preescapular y bazo.

Roberts (25), describe las lesiones neuropatológicas en los equinos infectados naturalmente con EEV. Posteriormente Payán en 1972, analiza estos mismos cambios en asnos infectados experimentalmente (19).

Rodríguez en 1972, estudió la histopatología de la EEV., en hamsters infectados natural y experimentalmente (26), y en 1975, analizó los cambios morfológicos del páncreas de los infectados experimentalmente (27).

Lleras en 1978, hace una discusión de los hallazgos histopatológicos descritos por diversos autores, en varias especies animales (15).

#### Diagnóstico:

San Martín y Dueñas (29), hicieron estudios comparativos de las técnicas de inhibición de la hemoaglutinación y neutralización. De 344 sueros negativos a la prueba de IH, todos fueron negativos por NT. De 100 sueros con títulos IH de 1:80 ó más, todos neutralizaron el virus.

En el Carmelo (Valle), se sangraron 70 equinos entre enfermos y asintomáticos y se aisló el virus de 11 (34). En la María se aisló el virus de suero y del encefalo de un caballo moribundo sacrificado y del suero

de 9 de 69 caballos aparentemente sanos. Durante la epidemia de 1970, en el Huila el virus se aisló de 5 equinos febriles (3) y en 1967/68 se aisló de un equino en Córdoba (24). El virus no se ha aislado de Bovinos.

#### Anticuerpos en Humanos:

Estudios realizados en San Vicente de Chucurí, (Santander), demostraron que el 2.10/o de 864 sueros de humanos residentes en piedemonte y 34.10/o de 94 humanos residentes en lo profundo del Valle, fueron positivos por la prueba de IH; estos sueros fueron tomados entre 1956-1957 (6).

Groot en 1958, utilizando la prueba de IH, estudió la prevalencia de anticuerpos contra la EEV, en sueros humanos de algunas localidades de Cundinamarca, Meta, Caldas y Tolima. De un total de 1.476 muestras estudiadas, encontró una positividad de 5.20/ con variación entre 0 y 340/o. Estos resultados demostraron que la prevalencia del agente era bastante común en el país (5).

Encuestas serológicas en el hombre, continuaron durante el período de 1956 a 1961. Se relacionaron cuatro áreas geográficas y ecológicas distintas. Se tomaron 1.792 sueros en la zona selvática que comprende a Acandí en el valle de Urabá, en el valle del alto Magdalena, en el valle del Magdalena Medio y los Llanos Orientales (8). Se encontró alta prevalencia de EEV en el Golfo de Urabá y el Magdalena Medio y baja en los Llanos Orientales y Villeta. La mayor prevalencia de anticuerpos se encontró en San Vicente de Chucurí 280/o en Humanos.



En 1966, se realizó una encuesta serológica en la colonia penal de Araracuara, se estudiaron 396 sueros Humanos, entre los cuales había 262 correspondientes a personas que tenían 14 ó más años de edad cuando llegaron a la región y 134 sueros de personal nativo. Aunque la EEV, parece no existir en esta región, se encontró que el 4.6% de los forasteros tenían anticuerpos (21).

Cuatro o cinco meses después del brote de 1972, en la Guajira, se sangraron 163 personas. Se observó que un 70% de ellas tenían anticuerpos contra EEV, (30). Se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de personas inmunes que mostraron síntomas de enfermedad en la época del brote 72.3% y en aquellas que no lo presentaron 52.3%.

La prevalencia en humanos de Puerto Boyacá, positivos a EEV, entre 1970 y 1976 fué de 30% (13). En Lozanía (Tolima) 1973-74 se encontró que el porcentaje de humanos positivos a EEV era de 84% (13). Los resultados humanos indican, que hay una tendencia a aumentar la positividad con el incremento de edad, lo cual se explica debido posiblemente a la mayor probabilidad de contacto con el virus o la convivencia en zonas endémicas, lo cual indicaría actividad viral en las mismas áreas antes del brote de 1967-1968. Así, en la epidemia del Valle del Cauca, se encontró que los primeros casos se presentaron dos semanas después de los casos equinos iniciales, siguiendo la curva epidémica a la epizootica. De las 186 personas sangradas un año después de la epidemia, el 22% mostró anticuerpos de IH (34).

Entre 43 sueros con títulos IH 1:40, 13 fueron negativos por NT. Pruebas so-

bre 13 sueros, indican que otros virus del grupo A, podrían ser responsables de estos títulos, en 9 casos fué establecido que Mayaro, u otros virus relacionados, fueron responsables de la producción de anticuerpos III de bajo título para EEV.

Se estandarizó y se concluyó que la sensibilidad de la técnica de doble difusión en agar es superior a la prueba de IH, pero inferior a la de IH. No presenta reacción cruzada con los virus de las EEE y EED. (40).

#### Vacunas:

En 1968, se comenzaron a preparar vacunas experimentales contra la EEV; estos biológicos se prepararon en huevos embrionados, y se inactivaban con formol. El biológico en estudio produjo 80% de protección en los cobayos vacunados (14).

En contraste con estos resultados, experiencias obtenidas en el país indican que las vacunas a virus muerto empleadas hasta la fecha, no inducen en los equinos producción de anticuerpos (16) y que pueden desarrollar la enfermedad aislándose el virus de los equinos en algunos casos (16, 17), se han observado en humanos resultados diversos con el empleo de vacunas inactivadas; entre 327 personas que habían recibido este tipo de vacuna, se registraron 14 casos clínicos de encefalitis (17).

Las pruebas con vacuna liofilizada preparada con el virus vive modificado (TC 83), han mostrado que los equinos vacunados desarrollan virémia con títulos entre 10<sup>1.2</sup> a 10<sup>4.4</sup> por ml., al día 14, anticuerpos detectados por la técnica de IH



con títulos entre 1:40 a 1:320 y resisten el reto a los 14 y 21 post-vacunación (24).

El desarrollo de vacunas preparadas con virus vivo atenuado (TC 83) creó la necesidad de estudiar la posibilidad de una reversión del virus a su estado virulento. Para descartar esa posibilidad se llevaron a cabo pruebas de la vacuna en el LIMV, (37), setenta y dos horas después de vacunar al primer equino se tomó muestra de sangre periférica, que inmediatamente se inocularon en un segundo equino; a igual lapso; a este equino se le tomó una muestra de sangre que se inocularon en un tercer equino y así sucesivamente. Estos estudios se realizaron a las 24 horas, 48, 82, 96 y 120 horas post-inoculación. A las 24 horas se aisló el virus de EEV del caballo correspondiente al 5o. pase. A las 48 horas correspondió el mayor número de aislamientos: Al vacunado al 2o. 3o. 7o. y 8o. pases; a las 72 horas a los correspondientes al 4o. y 8o. pase; a las 96, al 1o. y 8o. a las 120 horas no hubo aislamiento. Los títulos oscilaron entre  $10^{0.7}$  y  $10^{3.7}$  por ml.

También se han hecho observaciones sobre la vacuna TC 83, en humanos; en el LIMV, se vacunaron 83 personas incluyendo 36 ya vacunadas y 37 que lo eran por 1a. vez. No fué posible aislar el virus. Los resultados serológicos post-vacunales se realizaron sobre 35 personas e indicaron una "Protección" del 68% en los vacunados como en los revacunados. El 42% de los vacunados, mostraron cefales, escalofrío y artralgia. A pesar de que en su preparación se utiliza la misma semilla patrón (TC 83), no todos los productos finales han mostrado las mismas propiedades de inmunogenicidad y antige-

nidad (11, 12), enfatizando sobre la necesidad de establecer controles permanentes en la preparación del producto.

#### CONTAMINACION ACCIDENTAL

La facilidad de contaminación con el virus de la EEV, a nivel de laboratorio entre humanos, se observó en el LIMV. Un brote ocurrió cuando se procesaba antígeno para la prueba de IH; se utilizaba como fuente de antígeno cerebro de ratones lactantes infectados y tratados con sucrosa y acetona.

Aproximadamente diez días después de su preparación, se comenzaron a presentar los primeros síntomas de la enfermedad con fiebre alta, artralgia, cefalea intensa, trastornos en la visión, pérdida del equilibrio, náuseas y dolor retroorbicular. Hubo dos casos asintomáticos. Todos los casos se presentaron en el término de una semana. Alcanzaron a enfermarse doce personas, incluyendo tres vacunados previamente. El diagnóstico de EEV., se confirmó por el aislamiento del virus de tres de ellos y por aumento en el título de anticuerpos de IH (títulos 1:640) y FC (títulos máximos 1:312). La convalecencia duró aproximadamente dos semanas (11).

#### COMENTARIOS GENERALES

Por su amplia distribución geográfica y por causar grandes epizootias con alta tasa de ataque, la EEV, constituye un serio problema en Colombia. La proporción de equinos que mueren durante las epizootias puede oscilar entre 19 y 37%, con porcentaje de mortalidad en equinos infectados entre 38 y 83% (35). Es di-



fácil dar una idea exacta de las pérdidas económicas, pues, además del número de equinos muertos se deben considerar costos veterinarios, disminución de producción, días de trabajo perdidos, y otros costos cuando hay condiciones de emergencia y medidas de control especiales (10).

El reporte detallado de la sintomatología y progreso de la enfermedad en equinos, ha recibido poco interés por parte de los investigadores colombianos, se sabe sin embargo, que los síntomas podrían estar influenciados por factores como la exposición previa a otros agentes, la invasión secundaria bacterial, viral (otros arbovirus diferentes de la EEV) la desnutrición y si la descripción es de enfermedad natural o en laboratorios.

En la interpretación de los resultados debe considerarse que el virus de la EEE., ha sido aislado en Colombia y que se han detectado anticuerpos contra EEE y EEO., en varias regiones del país y en varias especies animales.

El conocimiento adecuado de la enfermedad se ve limitado por el medio ambiente difícil, la pobre vigilancia epidemiológica, la ausencia de personal entrenado, y el cálculo exagerado de pérdidas (33). Variaciones de estos elementos incluyen: signos clínicos no específicos, enfermedad subclínica no detectada, reporte de rumores como hechos y la tendencia de dramatizar desastres adscribiendo todos los enfermos y muertos a la enfermedad de "moda" en el momento.

En el hombre la enfermedad en general, es benigna, los casos fatales varían entre 0.2 y 1% usualmente en menores de

15 años. No se sabe las secuelas y posibles efectos del virus sobre niños *in-útero* (10).

Estudios hechos durante y después de la gran epidemia de 1967-1968 indican que hay lugares en Colombia donde la EEV puede ser encontrada en forma endémica mantenida entre roedores y mosquitos, mostrando los equinos en estas áreas acumulación de anticuerpos con la edad.

En 1978, aparecieron brotes en zonas infectadas en 1967-1969, (16). Es de esperarse que, cuando la población inmune sobreviviente de brotes previos sea reemplazada por animales susceptibles se presentan nuevos brotes de la enfermedad. El curso, duración e intervalo entre epizootias es variable, dependiendo de la presencia de virus de vertebrados susceptibles artrópodos vectores y otros factores que puedan afectar estas condiciones (9). Nuevos brotes podrían ser prevenidos por la delimitación de regiones en las cuales se pueden presentar epizootias, respaldados por encuestas serológicas (35) y sistemas organizados de vigilancia epidemiológica y control (9).

El hecho de que se presente en forma continua brotes de EEV, en la Guajira media y alta, donde las condiciones medioambientales no son las más adecuadas para mantener en forma permanente el virus, hace pensar que debe existir un medio ecológico adecuado, donde se originan los brotes periódicos clásicos (9). Hacia el sureste de esta región se encuentran los bosques húmedos tropicales del Catatumbo y hacia el Oeste, los del piedemonte de la Sierra Nevada de Santa Marta,



donde ha sido aislado el virus, por medio de hamsters centinelas (35).

En general se ha observado que los brotes en humanos aparecen después de enzootias concomitantes en caballos, estos desarrollan altas virémias durante la infección, frecuentemente antes de que ocurran los síntomas, gran cantidad de mosquitos vectores pueden ser infectados por un solo caballo virémico (16). Los bovinos y cabras no han mostrado jugar papel en la propagación del virus, sin embargo, desarrollan anticuerpos que persisten por largos períodos, considerándose por esto como útiles indicadores de actividad viral.

Debido a que el control de vectores es impracticable el único medio a considerar es la vacuna, la cual puede producir protección permanente (16). En la reunión de Maracay (Venezuela), se recomendó que los productos biológicos se elaboren

según métodos estándares y con controles adecuados de inocuidad y actividad. Se concluyó que la vacuna empleada debe ser preparada con el virus que causa la enfermedad en los equinos. No sobra insistir en la necesidad de un empleo adecuado de la vacuna, ciñéndose estrictamente a normas establecidas para la preservación y manejo de biológicas, preparados en base de agentes vivos.

Al hacer pruebas serológicas y de reto de vacuna, es necesario aclarar si se trabaja con cepas homólogas o heterólogas ya que se reportan diferencias en los resultados, en cada uno de los casos anotados.

En el simposio sobre zoonosis, realizado en Ibagué en 1976 (37), nuevamente se hizo una revisión de literatura sobre vectores y reservorios de EEV, de la patología experimental, generalidades del grupo y de su respuesta inmune.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALBORNOZ J.E., 1935. La Peste Loca, de las bestias (enfermedad de Borna) Colombia Ming. Agr. Com., Bogotá Bol. de Agr. (Suppl.) 26: 1-8.
2. COTES M., 1972. Estudios epidemiológicos del virus de la encefalitis equina Venezolana, en la Guajira. Tesis M.S. UN-ICA. Bogotá Colombia. (Mimeografiada).
3. DEL AGUILA C., 1972. Encefalitis Equina Venezolana. Estudios epidemiológicos del brote 1970-1971. Valle de Suaza, Huila, Colombia. Tesis de grado M.S. UN-ICA. Colombia, (Mimeografiada).
4. GAST GALVIS A., 1961. Una década de labor del Instituto Carlos Finlay de Colombia. Bol. Of. San Pan. 50- 44-58.
5. GROOT H., 1958. Notas sobre frecuencia de la infección humana por el virus de la Encefalitis Equina Venezolana en Colombia. Rev. Univ. Andes (Colombia) 1: 133-135.
6. GROOT H., KERR J.A., SANMARTIN C. And Vidales H., 1959. Antibodies to yellow fever and other arthropodborne viruses in human residents to San Vicente de Chucurí, Santander, Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 8: 175-189.
7. GROOT H., MORALES A. and VIDALES H., 1961. Virus isolation from forest mosquitos in San Vicente de Chucurí, Colombia Am., J. Trop. Med. Hyg. 10: 397-402.
8. GROOT, 1964. Estudios sobre virus transmitidos por artrópodos en Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias 12: 197-217.



9. GROOT H., 1971. Epidemiología de la forma epizootica de la Encefalitis Equina Venezolana y su impacto sobre la economía de la salud de las Américas. *In*: Reunión Interamericana sobre Fiebre Aftosa y otras zoonosis 4o. Lima-Perú, Abril/5 7 Washington. O.P.S. 126-133.
10. GROOT H., 1972. The health and economic impact of Venezuelan equine encephalitis (EEV) Venezuelan encephalitis proceedings the workshop symposium of Venezuelan encephalitis virus Washington 1971. O.M.S. 243: 7-16.
11. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA, 1972. Departamento de Ciencias Veterinarias. Informe Anual de Actividades. 1972.
12. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA, 1978. Departamento de Ciencias Veterinarias. Informe Anual de Actividades. 1978.
13. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. 1977. Informe de actividad durante 1976.
14. LOBO, C.A., GALLEGRO I., GOMEZ G. 1970. Ensayos preliminares en cobayos con varios tipos de vacunas experimentales contra la Encefalomielitis Equina Venezolana, *Veterinaria y Zootecnia*. 9: 12-22.
15. LLERAS A. Y TORO G., 1976. Encefalitis por Arbovirus En: Infecciones del Sistema Nervioso Central. Fondo Educativo Americano. Bogotá, p.p. 175-185.
16. MACKENZIE R.B., 1971. Encefalitis Equina tipo Venezuela en Colombia, 1967-1971. Observaciones relativas a su historia natural y vacunas. En: Encefalitis Equina tipo Venezuela. Mesa Redonda Internacional. México. 1971.
17. MACKENZIE R.B. 1974. Experiencias naturales favorables y desfavorables debidas al uso de vacunas inactivadas contra Encefalitis Equina Venezolana y otros virus de Encefalitis Equina. Conferencia Internacional sobre vacunas sobre Encefalitis Equina Venezolana y otros virus de Encefalitis Equina. Maracay Venezuela, 1974.
18. O.S.P. 1968. Brote de encefalitis transmitida por artrópodos en Colombia. *Inf. Epid. Semanal* 40: 77-78.
19. PAYAN J., 1972. Estudios histopatológicos de la Encefalitis Equina Venezolana en asnos. Tesis M.S. UN-ICA., Bogotá Colombia, (Mimeografiada).
20. PAYAN J., y ADAMS G., 1978. Estudios de la Inmunofluorescencia del virus de Encefalitis Equina Venezolana en animales infectados experimentalmente, *Revista ICA*, Bogotá, 13: 135-140.
21. PRIAS E., BERNAL C., TORRES DE S. Y ROMERO M., 1970. Encuesta serológica de virus transmitidos por artrópodos O.P.S., 134-140.
22. PRIAS E., 1971. Manifestaciones clínicas y diagnósticos clínico en el hombre. Primer seminario nacional de Encefalitis Equina Venezolana. Bogotá, Colombia. (Mimeografiada).
23. RAVE G. Y MORALES G., 1972. Respuesta hematológica y térmica a la inoculación del virus de Encefalitis tipo Venezuela en equinos y asnales, *Revista ICA*, Bogotá, Colombia. 7:57-64.
24. ROCKEFELLER FOUNDATION. 1968. 1969. Cali virus laboratory Combined 1968-1969. Report. (Mimeografiada sin publicar).
25. ROBERTS E., SANMARTIN C., PAYAN J., and MACKENZIE R.B. 1970. Neurophatologic changes in 15 horses with naturally occurring Venezuelan Equine Encephalomyelitis. *Am. J. Vet. Res.* 31:1223-1229.
26. RODRIGUEZ G., ROMERO M., TORO G., Y BUITRAGO B., 1972. Encefalitis Equina Venezolana. Histopatología de la Infección natural y experimental en hamsters. *Revista Latinoamericana de Patología*. 11: 85-100.
27. RODRIGUEZ G., 1975. Morphological changes in the pancreas of the hamsters during Venezuelan equine encephalomyelitis (EEV) virus infection. *Patología (México)*, 13: 297-310.
28. SANMARTIN G., GROOT H., and OSORNO E., 1954. Human epidemic in Colombia caused by the Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 3: 283-293.



29. SANMARTIN C., And DUEÑAS A., 1959. Hemagglutination Inhibition and neutralization test for the Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus Am - J. Trop. Med. Hyg. 8:346-348.
30. SANMARTIN C., y ARBELAEZ N., 1965. Inmunidad al virus de la Encefalitis Equina Venezolana en la población de la Guajira, Colombia, en Abril de 1963. O.P.S., 59: 516-525.
31. SANMARTIN C., TRAPIDO N., BARRETO P., and LESMES C., 1971. Isolation of Venezuelan and Eastern Equina Encephalomyelitis viruses from centinel hamsters exposed in the Pacific lowlands of Colombia Am. J. Trop., Med. Hyg. 20: 469-473.
32. SANMARTIN C., 1972. In: "Venezuelan Equine Encephalomyelitis". Pan. Am. Health Orgm. Washington, D.C. No. 243 - P. 247.
33. SANMARTIN C., 1974. EXPERIENCIAS EPIDEMIOLOGICAS EN sub-países super-desarrollados. Ant. Med. 24: 103-110.
34. SANMARTIN C., MACKENZIE R., TRAPIDO H., MULLENAX CH., GUTIERREZ E., Y LESMES C., 1978. Encefalitis Equina Venezolana en Colombia. 1967. O.P.S. Ramos, Buenos Aires, Argentina. 74: 108-137.
35. SANMARTIN C., 1976. Las Encefalitis por Arbovirus con especial referencia a las equinas. Salud Animal; Programas y tendencias en las Américas. O.P.S. 80-88.
36. SAMPER B., Y SORIANO A., 1943. Nuevas observaciones sobre una cepa del virus de la Encefalitis Equina Bol. Inst. Nal. de Higiene. (Bogotá) 10: 5-8.
37. SIMPOSIO ZONOSIS MEMORIAS. 1978. Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia. 1978.
38. SORIANO A., Y FIGUEROA L. 1942. Aislamiento de un virus de un caballo atacado de Peste Loca en Bogotá, Bol. Inst. Nal. de Higiene Samper Martínez. 8: 3-15.
39. TORRES M.L., COTES M., Y AYCARDI E. 1971. Estabilidad de la Vacuna de Encefalitis Equina Venezolana en caballos. Resumen de los trabajos presentados en el 8o. Congreso Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Cúcuta, 1971.
40. TORRES M.L. 1971. Evaluación de la técnica de difusión doble para el estudio de anticuerpos contra el virus de la Encefalitis Equina Venezolana. Tesis M.S., UN-ICA. Bogotá, Colombia, (Mimeografiada).
41. ZULUAGA F. N., 1974. Serologic evidence for natural infection of wild and domestic animals with three alpha-viruses. In: Epizootiological studies of selected insect borne viruses in Antioquia, Colombia. Tesis M.S. Universidad de Wisconsin, U.S.A. (Mimeografiada).
42. ZULUAGA F.N., Y YUILL T.M., 1976. Estudios sobre transmisión de la Encefalitis Equina Venezolana por Simulium sp. Memorias Congreso Nal. de Medicina Veterinarias y Zootecnicas, Medellín, Colombia. 1976.
43. ZULUAGA F.N., y YUILL T. M., 1978. Estudios epizootiológicos del virus de la Encefalitis Equina Venezolana en Providencia, Antioquia Rev. Acovez. Bogotá, Colombia 1:9-14.

Las investigaciones que siendo motivo de Tesis de Grado, no han sido publicadas pueden ser consultadas en la biblioteca Agropecuaria de Tibaitatá, o en la biblioteca del LIMV.



# el antibiótico número 1

## Benzetacil Fortificado

Es la combinación penicilínica ideal para el tratamiento de las infecciones en el ganado, en razón a que ofrece:

- ABSORCIÓN RÁPIDA Y HEMOCONCENTRACIONES INICIALES ALTAS.
- EFECTO PROLONGADO CON CONCENTRACIONES TERAPEUTICAS EFICACES.

La penicilina G Procaínica, por su hemoconcentración inicial alta, acelera la distribución en los tejidos constituyéndose en un factor favorable en el tratamiento de las INFECCIONES AGUDAS con temperaturas elevadas.

La penicilina G Benzatínica, de absorción más lenta, mantiene hemoconcentraciones que evitan las intermitencias y reinfecciones. Las hemoconcentraciones de penicilina G Benzatínica varían según la especie animal así:

Ganado Bovino	6 a 9 días
Equinos	7 a 9 días
Ovejas	5 a 7 días
Perros	8 a 15 días

El Benzetacil Fortificado es especialmente útil en el tratamiento de enfermedades en las cuales se desea obtener inmediatamente una concentración sanguínea eficaz y mantenerla durante un período prolongado; recomendamos su uso en: carbón sintomático y bacteridiano, abscesos, difteria de los terneros, influenza equina, erisipela, metritis, neumonías, infecciones puerperales, pielonefritis bacilar, espiroquitosis, onfaloflebitis, edema maligno y mastitis.

Es un gran coadyuvante en la recuperación total de entidades patológicas tales como: fiebre aftosa, gangrena gaseosa, tetanos, enterotoxemia, moquillo, rinotraqueítis infecciosa bovina y anemia infecciosa equina.

**ADMINISTRACIÓN:** Únicamente por vía intramuscular profunda.

**DOSIIFICACIÓN:** 11.000 a 22.000 UI. kg/peso

**RECOMENDAMOS:**

Animales grandes 6'000.000 UI.  
Animales medianos 3'000.000 UI.  
Potros, terneros, cerdos 1'500.000 UI.

**PRESENTACION:**

Caja por 12 frascos de 6'000.000 UI c/u.  
Caja por 12 frascos de 3'000.000 UI c/u.  
Caja por 12 frascos de 1'500.000 UI c/u.

Empaque original: 144 unidades.

**IMPORTANTE:** Una vez reconstituida la suspensión de Benzetacil Fortificado puede conservarse en refrigerador durante 1 semana sin pérdida de potencia.

El tratamiento a que ha sido sometido el Benzetacil Fortificado y su envasamiento en frascos de vidrio siliconado permiten aprovechar TODA la suspensión, ya que no se adhiere a las paredes.

CONSULTE AL MEDICO VETERINARIO

Registro ICA No. 543DB-544DB-1627DB

L-BEN.FOR.-COL-1



LABORATORIOS WYETH INC.  
BOGOTÁ - COLOMBIA  
DIVISION VETERINARIA Y DE NUTRICION ANIMAL

© 1968 Wyeth Laboratories