



Virus emergentes y reemergentes

Flor Pujol de Freychet ¹.

¹fpujol@pasteur.ivic.ve

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 31 de Diciembre del 2000 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Entre las patologías virales, las enfermedades emergentes y reemergentes constituyen uno de los retos más importantes a la salud pública en Venezuela y a escala mundial. Los virus emergentes se incluyen dentro de 3 grandes categorías: los virus cuya incidencia o prevalencia ha aumentado significativamente en las últimas décadas, siendo el mejor ejemplo en Venezuela el virus dengue, virus conocidos pero sólo recientemente identificados, como el virus de hepatitis C y virus nuevos, como el virus de inmunodeficiencia humana. El propósito de esta revisión es resumir algunos conceptos relativos a enfermedades virales emergentes y reemergentes, mencionando ejemplos claves en la salud pública venezolana y algunas características virológicas y moleculares.

INTRODUCCIÓN

Muchas de las enfermedades mortales y más temidas, así como las más comunes y cotidianas, son causadas por virus. A pesar de poseer una información genética tan restringida (los genomas virales pueden ser tan pequeños como 1700 bases nucleotídicas), estos agentes se han adaptado a través de su, a menudo larga co-evolución con su huésped, para mantenerse invictos frente a la guerra librada contra ellos. Entre las enfermedades virales, las enfermedades emergentes y reemergentes constituyen uno de los retos más importantes a la salud pública en Venezuela y a escala mundial.

VIRUS EMERGENTES

Definición de virus emergentes

Un virus es denominado emergente si cumple con alguna de las 3 categorías descritas en la Tabla 1, es decir, si su incidencia ha aumentado significativamente en las últimas décadas, si se conocía su existencia, mas no fue sino recientemente identificado, o si sencillamente es un virus nuevo que no existía antes en la naturaleza. Un virus es denominado reemergente cuando se producen brotes en una cierta región geográfica, distanciados por grandes períodos de silencio epidemiológico.

En esta última década, se han descubierto cerca de 50 virus que infectan humanos. Muchos nuevos virus o virus desconocidos hasta la fecha han emergido, producto de cambios ecológicos, climáticos y socio-culturales (1) y a su vez del perfeccionamiento de las técnicas para identificación de nuevos virus, en particular las técnicas de biología molecular (2).

Tabla 1. Virus emergentes: definiciones

Virus emergentes	Algunas causas	Ejemplos
Virus cuya incidencia o prevalencia ha aumentado significativamente en las últimas décadas.	Cambios climáticos y/o en sistemas de control. Variantes de agentes preexistentes.	El mejor ejemplo en Venezuela es el virus dengue.
Virus recientemente identificados	Desarrollo de la biología molecular	Virus de hepatitis C, E y G.
Virus nuevos	Zoonosis.	El ejemplo por excelencia es el virus de inmunodeficiencia humana.

Virus reemergentes	Algunas causas	Ejemplos
Virus que reaparecen en una cierta localidad geográfica después de una larga ausencia	Epizoonosis.	Virus de encefalitis equina venezolana.

Adaptado de Kellam (2)

El resurgimiento del dengue en las Américas es un ejemplo de cómo ciertos cambios climáticos, ecológicos y demográficos impulsaron un incremento explosivo de los casos de dengue en toda la región, con el consecuente surgimiento del dengue hemorrágico. Un ejemplo evidente de los cambios ecológicos que preceden al resurgimiento del dengue en las Américas consiste en la reinvasión del mosquito vector, el *Aedes aegypti*; mientras que en 1970 este artrópodo estaba presente sólo en Venezuela, las Guayanas, algunas islas del Caribe y USA, para 1996 toda Centro América y prácticamente toda Sur América presentan el mosquito vector (3).

PROBLEMÁTICA DEL DENGUE EN LAS AMÉRICAS

El virus dengue es un flavivirus, miembro de la familia flaviviridae y comprende 4 serotipos virales. Estos virus presentan una cápside protéica que envuelve al genoma, que en este caso es un ARN de polaridad positiva. Esta cápside, a su vez está recubierta por una envoltura lipídica, donde se inserta la glicoproteína viral E, responsable de la especificidad de serotipo.

La evidencia epidemiológica y virológica muestra que la infección con un serotipo de dengue, lejos de proteger contra la reinfección por otro serotipo, puede incrementar la severidad de la enfermedad, conllevando, en ciertos casos, al dengue hemorrágico. Este fenómeno es conocido como la teoría secuencial (3). Sin embargo, no todas las infecciones secundarias por virus dengue cursan con manifestaciones hemorrágicas. Además de la infección primaria con otro serotipo, parecen ser necesarios otros factores para la manifestación hemorrágica del dengue. Existen actualmente evidencias que sugieren que tanto:

- factores genéticos del virus, como por ejemplo la existencia de genotipos más patógenos dentro de los serotipos virales (4),
- como factores asociados al huésped, tales como por ejemplo el hecho de que la raza africana sea más refractaria a la manifestación hemorrágica (3, 5), podrían, entre otros, jugar un papel en la generación del dengue hemorrágico.

La existencia del mosquito vector en USA representa una espada de Damocles para la emergencia potencial del virus dengue en ese país. De hecho, a principios de este año, se reporta un artículo sobre el riesgo potencial de una epidemia de dengue en el Edo. de la Florida (6). Aunque no fue en ese estado, se ha presentado, de hecho, un brote de dengue en el Edo. de Texas este año.

OTRAS FIEBRES HEMORRÁGICAS

Existen varias familias virales que generan una diversa rama de manifestaciones hemorrágicas en el hombre. Muchos de estos virus caen dentro de la definición de virus emergentes o reemergentes, ya que reaparecen después de largos silencios epidemiológicos (como el virus Ebola) o han sido recientemente descubiertos (arenavirus y hantavirus venezolanos).

VIRUS ÉBOLA

Uno de los virus más temidos junto con el VIH y que ha trascendido el ámbito científico para protagonizar hasta novelas de ciencia/ficción, es el virus Ebola (7). Este filovirus es un virus de tipo ARN de polaridad negativa, es decir que su genoma debe ser transcrito previamente para generar el ARN mensajero usado para la síntesis de proteínas virales. La infección por el virus Ebola, así como por otro filovirus africano, el virus Marburg, se caracteriza por un alto índice de

mortalidad. Asociado a la alta patogenicidad de este virus, está el hecho de que su proteína de envoltura, tanto en su forma estructural como el producto de secreción, parece interferir con el sistema celular y humoral, previniendo que se desarrolle una respuesta inmune en el huésped (8, 9). Se han descrito 4 subtipos de virus Ebola y uno solo para el virus Marburg.

Una característica enigmática de la infección por virus Ebola es que ocurren brotes en humanos después de largos silencios epidemiológicos. Mientras que los distintos subtipos del virus Ebola difieren hasta en un 47%, las infecciones distanciadas por largos años y hasta en localidades y países distintos se caracterizan por virus que son muy similares genéticamente (10, 11). Estos aspectos epidemiológicos sugieren la existencia de un reservorio animal para este virus. Aunque no han sido escasos los intentos por identificar animales susceptibles a la infección (12), no es sino recientemente que se han encontrado evidencias de secuencias del genoma viral en mamíferos terrestres, específicamente en roedores y musarañas (13,14).

FIEBRE HEMORRÁGICA VENEZOLANA

El virus Guanarito, agente causal de la Fiebre Hemorrágica Venezolana, fue descubierto en 1989 por la Dra. Rosalba Salas y otros investigadores del Instituto Nacional de Higiene, por la Dra. Nuris de Manzione, de la Dirección de Salud del Edo. Portuguesa y por investigadores norteamericanos (15). Es miembro de la familia *Arenaviridae*, que comprende 19 virus agrupados en dos grandes complejos antigénicos: arenavirus del Viejo Mundo y Complejo Tacaribe o arenavirus del Nuevo Mundo. Entre los arenavirus cabe destacar el temible virus africano Lassa (16). La Fiebre Hemorrágica Venezolana (FHV) es una enfermedad infecciosa muy severa que afecta la población rural de los Estados Portuguesa y Barinas. Se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, artralgias, dolor de garganta, vómito, dolor abdominal, diarreas, convulsiones, leucopenia, trombocitopenia y una variedad de manifestaciones hemorrágicas. El porcentaje de mortalidad es del 33%.

El reservorio natural del virus Guanarito es el ratón de la caña de azúcar, *Zygodontomys brevicauda*, en el cual el virus establece una infección persistente tolerante y relativamente benigna, con eliminación continua de virus por sus excretas, contaminando así el medio ambiente. De esta forma, la población con mayor riesgo de infección son los trabajadores agrícolas. A una década de su descubrimiento, este virus ha afectado al menos a 220 personas en el Edo. Portuguesa. Más recientemente, se descubre igualmente en Venezuela otro arenavirus en roedores de la zona, en este caso el *Sigmodon alstoni*, el virus Pirital. Sin embargo, el potencial del virus Pirital como patógeno humano es todavía desconocido (17).

LOS HANTAVIRUS

Los hantavirus son virus enzoóticos de roedores salvajes que causan una infección persistente y benigna en su huésped natural y son capaces de infectar a humanos de manera accidental, causando una enfermedad a menudo severa, con dos tipos básicos de sintomatología: fiebre hemorrágica con síndrome renal (principalmente en el viejo mundo) o fiebre hemorrágica con síndrome pulmonar (presente sólo en el continente americano). El género Hantavirus pertenece

a la familia Bunyaviridae. Son virus ARN de polaridad ambisentido (tanto polaridad positiva como negativa) compuestos por una envoltura lipídica (18). Esta enfermedad ha sido documentada en Norte América y en Sur América, principalmente en Argentina y Chile (19). En paralelo al descubrimiento del virus Guanarito en el Edo. Portuguesa, se identifica un hantavirus en roedores venezolanos (20). Recientemente, el año pasado, se documenta el primer caso confirmado de hantavirus en Venezuela.

VIRUS INFLUENZA

El virus influenza es un orthomixovirus que infecta el tracto respiratorio humano y de otros animales, causando gripes que pueden llevar hasta la muerte. Estos virus contienen además de la cápside protéica que recubre el genoma, una envoltura lipídica donde se insertan dos proteínas virales claves desde el punto de vista de su antigenicidad: la hemaglutinina y la neuraminidasa. Una parte significativa de la respuesta inmune protectora está dirigida contra estas proteínas. Las dos presentan variantes antigénicas conocidas como serotipos virales. Un grupo relativamente reducido de estos serotipos circula en humanos, mientras que éstos están ampliamente representados en los virus influenza que infectan aves. El genoma consiste en 8 segmentos de ARN de polaridad negativa.

La variabilidad genética que presenta este virus es lo que le permite reinfectar un huésped, ya que la inmunidad generada contra la variante anterior sólo lo protege parcialmente contra la nueva variante; este fenómeno es conocido como "drift" o deriva antigénica. La existencia de un genoma segmentado permite que ocurran rearrreglos genéticos (intercambio de uno o más segmentos de genomas virales entre dos virus distintos). Estos rearrreglos genéticos pueden involucrar a virus de distintas especies animales, generando por ejemplo, virus humanos con serotipos que no han circulado previamente en el hombre y por ende para los cuales éste posee un nivel muy pobre de inmunidad. El cambio antigénico que se produce en esos casos es conocido como "shift" o salto antigénico, generando epidemias o pandemias con una alta incidencia de mortalidad (Figura 1) (21). En Venezuela, se presentó una epidemia de influenza en el año 1998 que estuvo localizada mayormente en el oriente del país, con algunos casos en Caracas.

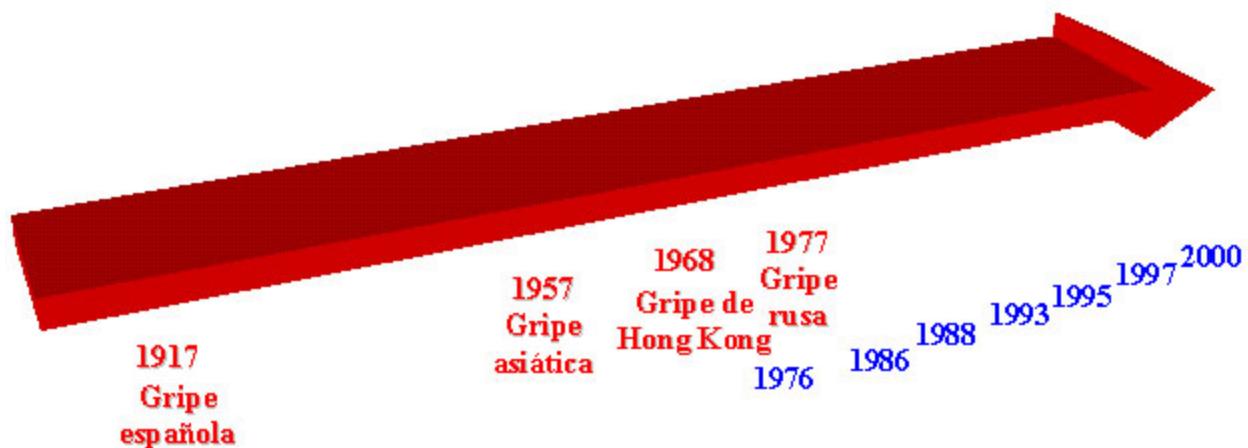


Figura 1: La influenza en el siglo 20. Los años indican episodios de pandemia o incidentes de diseminación limitada. La mayoría de ellos corresponden a la introducción de uno o varios genes

de virus influenza animales (cerdos o aves) al virus influenza humano (Snacken). Se reporta igualmente la epidemia actual de influenza en Europa.

REEMERGENCIA DE LA ENCEFALITIS EQUINA

El virus de la Encefalitis Equina Venezolana (VEEV) es un alphavirus perteneciente a la familia Togaviridae. Estos virus poseen un genoma de tipo ARN de polaridad positiva, es decir que el genoma es utilizado directamente para su traducción para la síntesis de proteínas. Estos virus se mantienen en la naturaleza en ciclos enzoóticos, mediante la transmisión entre artrópodos silvestres o mosquitos vectores y roedores o aves acuáticas. Este virus forma un complejo antigénicamente relacionado, pero distinto, que comprende seis subtipos (I al VI) de los cuales el subtipo I posee cinco variantes antigénicas (A,B, C, D, E y F) y el subtipo III contiene tres (A,B,C). El VEEV es responsable de numerosas epizootemias en algunas regiones de Centro y Suramérica, especialmente en Colombia, México, Perú y Venezuela. El ciclo epizoótico comprende la infección de especies de *Aedes* como vector invertebrado y a equinos (caballos y burros) como huéspedes vertebrados. Cuando se presentan estas endemias epizoóticas, el hombre puede ser eventualmente infectado por *Aedes sp.*, desarrollando una enfermedad a menudo severa, cuyo síntoma principal es la encefalitis.

La teoría más aceptada en la actualidad de cómo reemerge este virus, es que escasas mutaciones en el genoma viral son las responsables de la aparición de estas cepas epizoóticas patógenas en equinos y hombre. Estas mutaciones generan cambios en pocos amino-ácidos de las proteínas virales, tanto estructurales (la proteína de envoltura, afectando probablemente la antigenicidad del virión) como no estructurales (NSP3) (22). Como producto de estas mutaciones se genera un cambio a nivel de la variante viral, apareciendo una cepa patógena para los equinos y para el hombre. El alto grado de variabilidad característico de los virus compuestos por un genoma de tipo ARN y factores ecológicos son entonces probablemente cruciales para el surgimiento de las cepas epizoóticas del VEEV. Es importante señalar que la experiencia venezolana con el VEEV ha sido muy productiva; cuando se presenta una alerta epidemiológica de un posible brote epizoótico, las campañas de vacunación de equinos han sido relativamente efectivas para prevenir la diseminación de la enfermedad.

VIH Y LA EMERGENCIA DE NUEVOS VIRUS

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un lentivirus miembro de la familia retroviridae. Está compuesto por dos hebras muy similares de ARN de cadena sencilla y de polaridad positiva. La familia retroviridae debe su nombre al hecho de que en estos virus la polimerasa viral (enzima encargada de la replicación del genoma viral) es una transcriptasa reversa, ya que en una primera etapa de la replicación el genoma es transcrito a ADN. Este ADN proviral es capaz de integrarse en el genoma humano y luego es transcrito a ARN para generar las proteínas, así como nuevos genomas para la progenie viral. Una de las características más resaltantes de las transcriptasas reversas y de las ARN polimerasas virales (polimerasas que transcriben el ARN para generar nuevos ARN virales) es la ausencia de una actividad exonucleasa correctora presente en

las ADN polimerasas de los humanos, por ejemplo. Por esta razón, la frecuencia de introducción de mutaciones durante la replicación es mucho mayor, generando un potencial incrementado de variabilidad genética en estos agentes infecciosos. Es por ello que se habla del alto grado de variabilidad de los virus de tipo ARN (23). Este alto grado de variabilidad se traduce en el caso del VIH, por ejemplo, en dos tipos de variaciones:

- las variantes que surgen durante la infección crónica por el VIH en un paciente y que son responsables en parte de la incapacidad del huésped para remitir de la infección, a pesar de una respuesta inmune tanto humoral como celular, inicialmente vigorosa contra el virus.
- las variantes virales que se observan infectando a la población humana. Así como existen el VIH1 y el VIH2, existen distintos subtipos virales de cada uno de estos virus. Para el VIH1 se han descrito por ejemplo 3 grandes grupos (M, N y O) y los subtipos a, hasta j (24, 25).

Se piensa que el VIH se originó hace unos 50 años, producto de la transformación de un virus simio que generó un nuevo virus con capacidad de infectar al hombre. Esta introducción zoonótica no parece ser un hecho aislado dentro de ese grupo viral. Estudios filogenéticos sugieren que han ocurrido al menos 3 introducciones de virus simios sólo dentro del VIH1 y 6 dentro del VIH2 (Figura 2) (26).

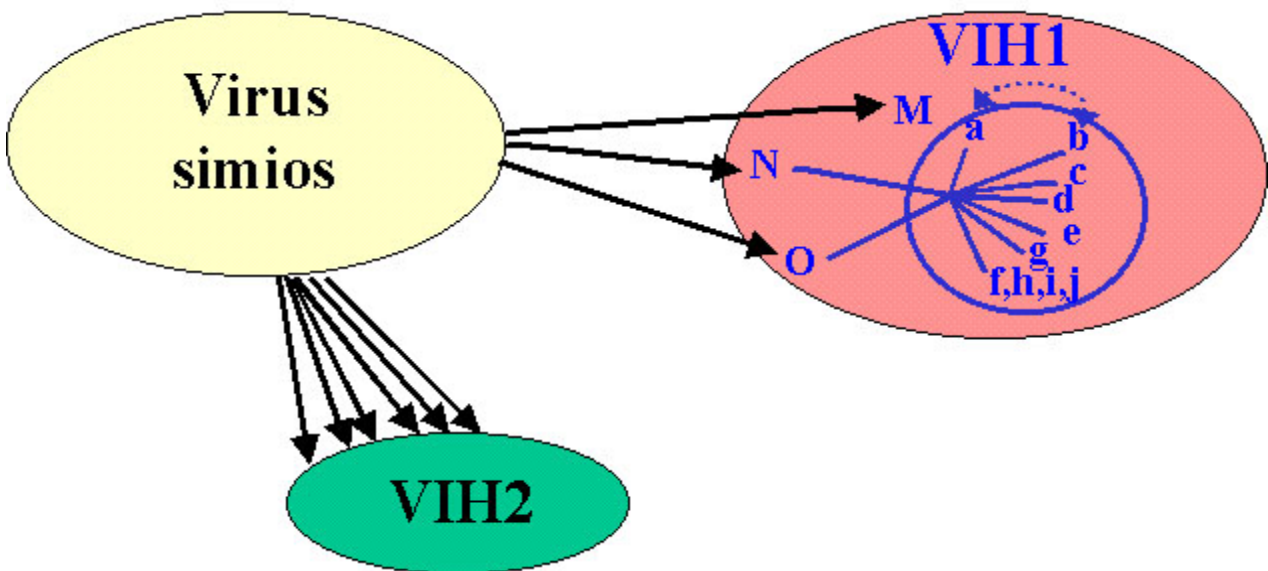


Figura 2. Esquema evolutivo del VIH. Las flechas negras indican posibles introducciones de nuevos virus a partir de virus simios. Los 3 grandes grupos (M, N, y O) y los subtipos del VIH1 (a-j) están incluidos en un árbol filogenético esquematizado por las líneas azules. Las flechas punteadas indican eventos de recombinación genética entre los distintos subtipos virales (25, 26).

El VIH es también responsable del surgimiento y/o descubrimiento de otros virus emergentes, como por ejemplo el virus asociado al sarcoma de Kaposi. El sarcoma de Kaposi es el tumor más comúnmente asociado con la infección por VIH1. En 1994, utilizando la técnica de biología molecular de representación diferencial, se identificaron secuencias similares a las de los virus herpes, descubriendo de esta forma el virus herpes 8 (VH8) (27). Numerosas evidencias identifican actualmente al VH8 como el agente etiológico del sarcoma de Kaposi (28). Además

del VH8, 2 nuevos miembros de la familia herpesviridae, los virus herpes 6 y 7, han sido identificados en menos de una década (29).

Por otra parte, así como la infección por VIH ha generado una población a riesgo para la implantación de enfermedades por agentes oportunistas, el éxito cada vez más grande en la medicina de transplante ha conllevado a la generación de una población inmunosuprimida susceptible a enfermedades antes prácticamente desconocidas. Entre éstas, cabe mencionar la patología asociada a la infección por citomegalovirus (30).

HEPATITIS VIRALES

En el alfabeto en vías de desarrollo que conforman los virus causantes de hepatitis, tres de ellos cumplen con la denominación de virus emergentes, el VHC, el VHE y el denominado VHG. Esta denominación se debe a su reciente identificación, usando técnicas cada vez más perfeccionadas de biología molecular (31, 32).

En estos últimos años, más explícitamente desde 1989, con la identificación del virus de la hepatitis C (VHC), el alfabeto que conforman los virus causantes de hepatitis ha crecido en forma significativa. Desde entonces, el alfabeto llega a la letra G. Es importante recalcar que estos virus pertenecen a familias virales muy distintas, lo cual tiene entre otras, una implicación muy importante: la infección por un virus no conlleva a protección contra otro y hasta es posible cursar varias de estas hepatitis virales a la vez. Estos virus se dividen además en virus de transmisión entérica (transmisión por aguas y alimentos contaminados) y de transmisión parenteral (las transfusiones sanguíneas, la drogadicción, la promiscuidad sexual, la hemofilia y la hemodiálisis son entre otros los factores de riesgo). En general, las infecciones por virus de transmisión parenteral son más graves, ya que muchos de estos virus pueden persistir, con secuelas graves para el hígado.

Antes de 1989, se conocían:

- el VHA, picornavirus de transmisión entérica que afecta mayormente a la población infantil venezolana y sin mayores secuelas,
- el VHB, hepadnavirus de transmisión parenteral, con secuelas de cirrosis y cáncer de hígado
- y el VHD, deltavirus que requiere una co-infección por el VHB para poder replicarse en forma efectiva y responsable de hepatitis fulminantes en particular en nuestras poblaciones indígenas de la Sierra de Perijá y del Amazonas (32-35).

En 1989, se descubre por técnicas de biología molecular, el VHC, hepacivirus miembro de la familia flaviviridae, de transmisión parenteral y cuya infección está asociada a secuelas similares a las del VHB (36). Poco después se confirma que Venezuela no está exenta de este mal (37). En 1990 se identifica en forma definitiva (ya se conocía su existencia), de nuevo por técnicas de biología molecular, el VHE, virus de transmisión entérica (38). Hasta 1994, se pensaba que este virus no estaba presente en Sur América, hasta que en ese año se presentan evidencias serológicas de infección por este virus en dos países de Sur América (39, 40). El VHF es un término reservado a un virus de transmisión entérica, cuya identificación en la India es todavía controversial.

Una vez descubierto el VHC y evitada su posible transmisión a partir de la transfusión de sangre y derivados contaminados, se observó que existía aún un pequeño porcentaje de hepatitis post-transfusionales que no podían ser adjudicadas a ninguno de los agentes virales etiológicos descubiertos hasta la fecha. Entre 1995 y 1996 se describe el VHG, de transmisión parenteral, utilizando herramientas cada vez más novedosas de biología molecular (41, 42). Venezuela no está exenta de esta plaga, ya que el virus circula aún en comunidades aisladas como los Amerindios (43). Sin embargo, la acepción de este VHG como virus causante de hepatitis parece haber sido algo prematura (44, 45). Al parecer, este virus no sería hepatotrópico como se pensó inicialmente (46). En estas circunstancias, se presume que debe(n) existir otro(s) virus de transmisión parenteral causante(s) de los casos de hepatitis no A, no B, no C, no D, no E, no G y plantea la interrogante entre ciertos investigadores: ¿existirán suficientes letras en el alfabeto para describir los virus de hepatitis (47)? Más recientemente (año 1997), se identifica el TTV, de nuevo por técnicas de biología molecular (48). Aunque parece estar asociado a hepatitis post-transfusionales, este virus no parece ser tampoco el responsable de las hepatitis de etiología no conocida (49). Más recientemente se describe un nuevo agente, el SEN-V: ¿será éste al fin el responsable de la hepatitis post-transfusionales no A hasta no TTV?... Analizando cuántos putativos virus de hepatitis han sido descubiertos o identificados en esta última década, la frecuencia promedio es de un virus cada dos años, lo cual podría acreditar a este grupo de agentes como un grupo viral emergente (31).

El virus de la hepatitis G (VHG), es como el VHC miembro de la familia Flaviviridae. Es un virus ARN de simple cadena de polaridad positiva. El análisis de secuencia de diferentes aislados del VHG sugiere la existencia de al menos 4 genotipos distintos, con una distribución geográfica característica. La caracterización molecular de aislados del VHG en poblaciones amerindias han mostrado la circulación del genotipo 3, similar al genotipo presente en el continente Asiático (50, 51). La circulación de un genotipo asiático del VHG en poblaciones amerindias apoya la hipótesis de que este virus podría ser muy antiguo y probablemente haber sido introducido en el Continente Americano con los primeros pobladores humanos hace unos 10.000-30.000 años (Figura 3) (52). Esta situación es similar a la observada con el virus HTLV-II (53, 54).



Los estudios de las variantes genéticas de los virus de hepatitis circulantes en Sur América sugieren que mientras que el VHB podría ser un virus autóctono que se originó en el Nuevo Mundo (55), el VHC es probablemente un producto reciente de importación. En contraste, como mencionado anteriormente, uno de los virus más recientemente descubiertos, pero probablemente más antiguo, el VHG, parece haber sido introducido en el continente americano con los primeros pobladores humanos (Figura 4).

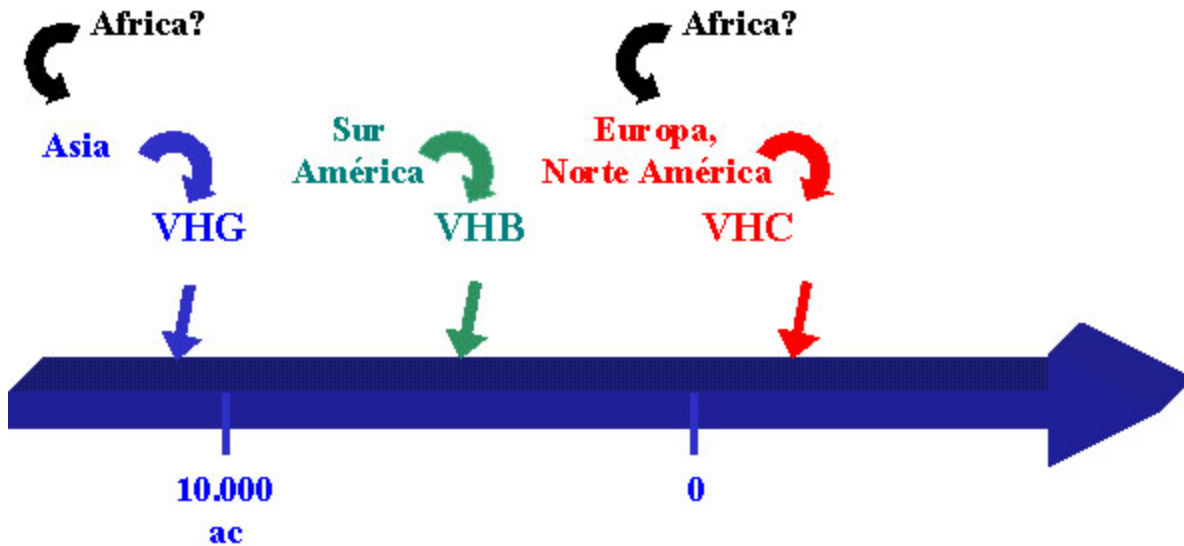


Figura 4: Hipótesis sobre el origen de los virus de hepatitis en las Américas. En la flecha están indicados los años aproximados que marcan las posibles introducciones o generaciones de los virus, siendo el VHG, uno de los virus más recientemente descubiertos, probablemente el más antiguo del grupo. Se indica igualmente el posible origen de los virus y el origen del virus que fue introducido a las Américas.

ENFERMEDADES CRÓNICAS DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA

Se piensa cada vez más que muchas, si no la mayoría, de las enfermedades crónicas de etiología desconocida son causadas por agentes infecciosos, algunos de ellos conocidos pero para los cuales no se ha podido establecer aún una relación causa/efecto. Un ejemplo de ello lo representa el VH8 y el sarcoma de Kaposi, como mencionado anteriormente y los nuevos VH6 y 7 asociados a exanthema subitum y pityriasis rosae (29). Otro ejemplo lo constituye el virus Borna, un virus de tipo ARN de polaridad negativa y miembro de la familia Bornaviridae, cuya infección ha sido asociada recientemente a trastornos mentales tales como la esquizofrenia (56).

VACUNAS VIRALES EN VÍAS DE EMERGENCIA

En esta revisión se han descrito algunos ejemplos y mecanismos de emergencia viral. Sin embargo, no sólo emergen los virus. En estos últimos 50 años se han desarrollado una docena de vacunas contra virus humanos (57). La biología molecular es una de las herramientas clave para el desarrollo de vacunas, bien sea basadas en proteínas recombinantes, en vacunas de tipo ADN

o bien sea en el diseño de vacunas a virus vivo atenuado. Esta revisión puede finalizar con una esperanza de una vacuna emergente contra el VIH (58).

REFERENCIAS

1. Mahy, BWJ. 1997. Emerging virus infections. *Virus International*. No 6: Editorial.
2. Kellam, P. 1998. Molecular identification of novel viruses. *Trends Microbiol*. 64: 160-165.
3. Gubler, DJ y Kuno, G. 1997. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Cab International. UK.
4. Leitmeyer, KC, Vaughn, DW, Watts, DM, Salas, R, Villalobos de Chacon, I, Ramos, C y Rico-Hesse, R. 1999. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *J Virol*. 73: 4738-4747.
5. Kouri, GP, Guzmán, MG y Bravo, JR. 1987. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2. An integral analysis. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 81: 821-823.
6. Gill, J, Stark, LM y Clark, GG. 1999. Dengue Surveillance in Florida, 1997-98. *Emerg Infect Dis*. 6(1). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol6no1/gill.htm>
7. Preston, R. 1994. The hot zone. A terrifying true story. Random House Inc. NY.
8. Chepurinov, AA, Tuzova, MN, Ternovoy, VA, Chernukhin, IV. 1999. Suppressive effect of Ebola virus on T cell proliferation in vitro is provided by a 125-kDa GP viral protein. *Immunol Lett*. 68:257-261.
9. Kindzelskii, AL, Yang, ZY, Nabel, CJ, Todd, RF y Petty, HR. 2000. Ebola Virus Secretory Glycoprotein (sGP) Diminishes FcRIIIB-to-CR3 Proximity on Neutrophils. *The Journal of Immunology*, 2000, 164: 953-958.
10. Georges-Courbot, MC, Sanchez, A, Lu, CY, Baize, S, Leroy, E, Lansout-Soukate, J, Tevi-Benissan, C, Georges, AJ, Trappier, SG, Zaki, SR, Swanepoel, R, Leman, PA, Rollin, PE, Peters, CJ, Nichol, ST, Ksiazek, TG. 1997. Isolation and phylogenetic characterization of Ebola viruses causing different outbreaks in Gabon. *Emerg Infect Dis*. 3: 59-62. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no1/courbot2.htm>
11. Peters, CJ. 1997. Ebola and hantaviruses. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 18: 281-289.
12. Breman, JG, Johnson, KM, van der Groen, G, Robbins, CB, Szczeniowski, MV, Ruti, K, Webb, PA, Meier, F, Heymann, DL. 1999. A search for Ebola virus in animals in the Democratic Republic of the Congo and Cameroon: ecologic, virologic, and serologic surveys, 1979-1980. Ebola Virus Study Teams. *J Infect Dis*. 179 Suppl 1:S139-S147.
13. Hagmann, M. 1999. On the track of Ebola's hideout? *Science*. 286: 654-655.
14. Morvan, JM, Deubel, V, Gounon, P, Nakoune, E, Barriere, P, Murri, S, Perpete, O, Selekon, B, Coudrier, D, Gautier-Hion, A, Colyn, M y Volehkov, V. 1999. Identification of Ebola virus sequences present as RNA or DNA in organs of terrestrial small mammals of the Central African Republic. *Microbes Infect*. 1: 1193-1201.
15. Salas, R, de Manzione, N, Tesh, RB, Rico-Hesse, R, Shope, RE, Betancourt, A, Godoy, O, Bruzual, R, Pacheco, ME, Ramos, B, et al. 1991. Venezuelan haemorrhagic fever. *Lancet*. 338: 1033-1036.
16. McCormick, JB, Webb, PA, Krebs, JW, Johnson, KM y Smith, ES. 1987. A prospective study of the epidemiology and ecology of Lassa fever. *J Infect Dis*. 155: 437-444.
17. Salas, RA, de Manzione, N y Tesh, R. 1998. Fiebre hemorrágica venezolana: ocho años de observación. *Acta Cient Venez*. 49 Suppl 1:46-51.
18. Hart, CA y Bennett, M. 1999. Hantavirus infections: epidemiology and pathogenesis. *Microbes Infect*. 1: 1229-1237.

19. Calderon, G, Pini, N, Bolpe, J, Levis, S, Mills, J, Segura, E, Guthmann, N, Cantoni, G, Becker, J, Fonollat, A, Ripoll, C, Bortman, M, Benedetti, R y Enria, D. 1999. Hantavirus reservoir hosts associated with peridomestic habitats in Argentina. *Emerg Infect Dis.* 5: 792-797. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no6/calderonG.htm>
20. Fulhorst, CF, Monroe, MC, Salas, RA, Duno, G, Utrera, A, Ksiazek, TG, Nichol, ST, de Manzione, NM, Tovar, D y Tesh, RB. 1997. Isolation, characterization and geographic distribution of Cano Delgadito virus, a newly discovered South American hantavirus (family Bunyaviridae). *Virus Res.* 51:159-171.
21. Snacken, R, Kendal, AP, Haaheim, LR y Wood, JM. 1997. The Next Influenza Pandemic: Lessons from Hong Kong. *Emerg Infect Dis.* 5(2). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid/col5no2/snacken.htm>
22. Wang, E, Barrera, R, Boshell, J, Ferro, C, Freier, JE, Navarro, JC, Salas, R, Vasquez, C y Weaver, S. 1999. Genetic and phenotypic changes accompanying the emergence of epizootic subtype IC venezuelan equine encephalitis viruses from an enzootic subtype ID progenitor. *J. Virol.* 73: 4266-4271.
23. Gojobori, T, Moriyama, EN y Kimura, M. 1990. Molecular clock of viral evolution, and the neutral theory. *Proc Natl Acad Sci USA.* 87: 10015-10018.
24. Hu, DJ, Dondero, TJ, Rayfield, MA, George, JR, Schochetman, G, Jaffe, HW, Luo, CC, Kalish, ML, Weniger, BG, Pau, CP, Schable, CA y Curran, JW. 1996. The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention. *JAMA.* 275: 210-216.
25. McCutchan, FE, Salminen, MO, Carr, JK y Burke, DS . 1996. HIV-1 genetic diversity. *AIDS. Suppl 3:*S13-20.
26. Gao, F, Bailes, E, Robertson, DL, Chen, Y, Rodenburg, CM, Michael, SF, Cummins, LB, Arthur, LO, Peeters, M, Shaw, GM, Sharp, PM y Hahn, BH. 1999. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature.* 397: 436-441.
27. Chang, Y, Cesarman, E, Pessin, MS, Lee, F, Culpepper, J, Knowles, DM y Moore, PS. 1994. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science.* 266: 1865-1869.
28. Reitz, MS Jr, Nerurkar, LS y Gallo, RC. 1999. Perspective on Kaposi's sarcoma: facts, concepts, and conjectures. *J Natl Cancer Inst.* 91:1453-1458.
29. Bergstrom, T. 1999. HHV 6,7 and 8. Recently discovered herpesvirus explain the etiology of well-known diseases. *Lakartidningen.* 96 : 3163-3165.
30. Diosi, P. 1995. 100 years of cytomegalovirus research: an overview. *Rev J Virol.* 46: 75-84.
31. Miyamura, T, Takeda, N y Matsuura, Y. 1997. Emerging and re-emerging hepatitis viruses. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 18: 307-312.
32. Pujol, FH y Devesa, M. 1997. Biología molecular aplicada al campo de las hepatitis virales. *GEN.* 51: 75-84.
33. Hadler, SC, de Monzon, M, Ponzetto, A, et al. 1984. Delta virus infection and severe hepatitis. An epidemic in the Yucpa Indians of Venezuela. *Ann Intern Med.* 100:339-344.
34. Torres, JR, y Mondolfi, A. 1997. Protracted outbreak of severe Delta Hepatitis: experience in an isolated Amerindian population of the upper Orinoco basin. *Rev Infect Dis.* 13: 52-55.
35. Purcell, RH. 1994. Hepatitis viruses: Changing patterns of human disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91: 2401-2406.
36. Choo, Q-L, Kuo, G, Weiner, AJ, et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science.* 244: 359-362.

37. Muller, G, Zabaleta, M, Caldera, LH, Bianco, N y Machado, IV. 1990. Hepatitis C en Venezuela. Comunicación preliminar. G E N. 44:336-342.
38. Reyes, GR, Purdy, MA, Kim JP, et al. 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. Science. 247: 1335-1339.
39. Ibarra, HV, Riedemann, SG, Siegel, FG, Reinhardt, GV, Toledo, CA, Frosner, G. 1994. Hepatitis E virus in Chile. The Lancet. 344:1501.
40. Pujol, FH, Favorov, MO, Marcano, T, Esté, JA, Magris, M, Liprandi, F, Khudyakov, Y, Khudyakova, N y Fields, HA. 1994. Prevalence of antibodies against hepatitis E virus among urban and rural populations in Venezuela. J. Med. Virol.42: 234-236.
41. Simons, JN, Leary TP, Dawson GJ, et al. Isolation of novel flavivirus-like sequences associated with human hepatitis. Nature Medicine 1995; 1: 564-9.
42. Linnen J, Wages J, Zhang-Keck Z-Y, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. 1996. Science. 271: 505-508.
43. Pujol, FH, Khudyakov, YE, Devesa, M, Cong, ME, Loureiro, CL, Blitz L, Beker S, Liprandi, F y Fields, HA. 1998. Hepatitis G infection in Amerindians and other Venezuelan high-risk groups. J Clin Microbiol 36: 470-474.
44. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Wesley R, Shih JW, Kim JP, Alter HJ et al. 1997. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. N Engl J Med. 336: 747-754.
45. Alter, MJ, Gallagher, M, Morris, TT, Moyer, LA, Meeks, EL, Krawczynski, K, Kim, JP y Margolis, HS. 1997. Acute non-A-E hepatitis in the United States and the role of hepatitis G virus infection. Sentinel Counties Viral Hepatitis Study Team. N Engl J Med. 336: 741-746.
46. Kew, MC y Kassianides, C. 1996. HGV: hepatitis G virus or harmless G virus? Lancet 348: S1110.
47. Bowden DS, Moaven LD y Locarnini SA. 1996. New hepatitis viruses: are there enough letters in the alphabet? Med J Australia. 164: 87-89.
48. Nishizawa, T, Okamoto, H, Konishi, K, Yoshizawa, H, Miyakawa, Y y Mayumi, M. 1997. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. Biochem Biophys Res Commun. 241:92-97.
49. Cossart, Y. 1998. TTV a common virus, but pathogenic? Lancet. 352: 164.
50. Loureiro, CL, Villegas, L, Blitz, L, Alonso, R, Liprandi, F y Pujol, FH. 1999. Caracterización molecular de aislados venezolanos del virus de la hepatitis G. XXVI Jornadas venezolanas de Microbiología, Valencia, Venezuela: 75.
51. Tanaka, Y, Mizokami, M, Orito, E, Ohba, K, Nakano, T, Kato, T, Kondo, Y, Ding, X, Ueda, R, Sonoda, S, Tajima, K, Miura, T y Hayami, M. 1998. GB virus C/hepatitis G virus infection among Colombian native Indians. Am J Trop Med Hyg. 59: 462-467.
52. Jin, L, Underhill, PA, Doctor, V, Davis, RW, Shen, P, Cavalli-Sforza, LL y Oefner, PJ. 1999. Distribution of haplotypes from a chromosome 21 region distinguishes multiple prehistoric human migrations. Proc Natl Acad Sci U S A. 96: 3796-3800.
53. Biggar, RJ, Taylor, ME, Neel, JV, Hjelle, B, Levine, PH, Black, FL, Shaw, GM, Sharp, PM y Hahn, BH. 1996. Genetic variants of human T-lymphotrophic virus type II in American Indian groups. Virology. 216: 165-173.
54. Leon-Ponte, M, Echeverria de Perez, G, Bianco, N, Hengst, J, Dube, S, Love, J y Poiesz, BJ. 1998. Endemic infection with HTLV-IIb in Venezuelan Indians: molecular characterization. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 17:458-464.

55. Blitz, L, Pujol, FH, Swenson, PD, Porto, L, Atencio, R, Araujo, M, Costa, L, Callejas-Monsalve, D, Torres, JR, Fields, HA, Lambert, S, Van Geyt, C, Norder, H, Magnus, LO, Echevarría, JM y Stuyver, L. 1998. Antigenic diversity of hepatitis B virus strains of genotype F in Amerindians and other population groups from Venezuela. *J. Clin. Microbiol.* 36: 648-651.
56. Planz, O, Rentzsch, C, Batra, A, Rziha, HJ y Stitz, L. 1998. Persistence of Borna disease virus-specific nucleic acid in blood of psychiatric patient. *Lancet.* 352: 623.
57. Hilleman, MR. 1999. Personal historical chronicle of six decade of basic and applied research in virology, immunology, and vaccinology. *Immunol Rev.* 170: 7-27.
58. Osmanov, S y Esparza, J. 1998. Development and evaluation of preventive HIV-1 vaccines. In: Saksena N: "Human Immunodeficiency Viruses: Biology, Immunology and Molecular Biology". Medical Systems, Genoa: 501-555.