

SEROPREVALENCIA DE INFECCION POR EL VIRUS ENCEFALITIS SAN LUIS EN LA PROVINCIA DE FORMOSA

LORENA SPINSANTI¹, VIVIANA RE¹, MARIA DE LOS ANGELES BASUALDO²,
GLADIS DIAZ¹, MARIA ROSA YACCI³, MARTA CONTIGIANI¹

¹ Laboratorio de Arbovirus y Arenavirus, Instituto de Virología Dr. JM Vanella, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; ² Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica, Formosa, ³ Instituto de Estadística y Demografía, Facultad de Ciencias Económicas, Universidad Nacional de Córdoba

Resumen El objetivo del presente trabajo fue conocer la prevalencia de anticuerpos para el virus encefalitis San Luis (ESL) en sueros humanos del Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del departamento Formosa (provincia de Formosa, Argentina), extraídos en los años 1995 y 1997, se emplearon las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (IH) y de neutralización (NT). El tamizaje realizado mediante la prueba de NT mostró una prevalencia del 21% (60/284) y 32% (50/157) en las muestras obtenidas en los años 1995 y 1997 respectivamente. El 14% de los sueros del año 1995 presentaron títulos de anticuerpos neutralizantes (NT) bajos (1/20 y 1/40) mientras que en el año 1997 el 19% de los sueros tenían títulos de anticuerpos NT iguales o mayores a 1/80. En la titulación simultánea de anticuerpos por NT e IH se observaron sueros con títulos bajos de anticuerpos NT (1/20-1/40) y negativos en IH, mientras que otros poseían títulos altos por ambas pruebas. Esta relación entre los títulos de anticuerpos indica la presencia de infecciones pasadas y recientes y la circulación continua de este virus. Por otra parte la prevalencia de anticuerpos NT en la población estudiada se incrementó significativamente en 2 años ($p < 0.0075$), lo que confirma la endemidad de este agente en la zona y muestra la necesidad de realizar estudios de las enfermedades febriles de etiología viral no confirmadas, a fin de conocer su importancia como patógeno humano en nuestro país.

Abstract *Seroprevalence of infection caused by St. Louis encephalitis virus in the Province of Formosa.*

The aim of this work was to determine the prevalence of antibodies against St. Louis encephalitis virus (SLE) in human sera provided by the Laboratory of Epidemiological Surveillance from Formosa District (Province of Formosa, Argentina) in 1995 and 1997. The tests used for this study were hemagglutination inhibition (HI) and neutralization (NT). The screening performed by NT test showed prevalences of 21% (60/284) and 32% (50/157) of antibodies in samples obtained in 1995 and 1997 respectively. In 1995, 14% of tested sera showed low titer of neutralizing antibodies (NT) (1/20 and 1/40) whereas in 1997, 19% of the sera presented titers of NT antibodies equal or greater than 1/80. It was observed that sera with low titers of NT antibodies (1/20-1/40) resulted negative in HI in the simultaneous titration of antibodies by NT and HI whereas other sera presented high titers for both tests. This relation between the low and the high titers of antibodies indicates the presence of past and recent infections and the continuous circulation of this virus. Moreover, the prevalence of NT antibodies in the surveyed population increased significantly in 2 years ($p < 0.0075$) confirming the endemicity of this agent in this area and showing the need to perform studies of non-confirmed viral etiology febrile diseases to determine its importance in human pathogenicity.

Key words: St. Louis encephalitis virus, seroprevalence

El virus de la encefalitis San Luis (ESL) es un arbovirus que pertenece al género *flavivirus* de la familia Flaviviridae. Se aisló por primera vez de un paciente durante un brote de encefalitis en la ciudad de San Luis, EE.UU., en 1933. Desde entonces, la ocurrencia de la

enfermedad en Norte América se caracterizó por brotes periódicos¹.

Se describen tres síndromes clínicos asociados al virus ESL en humanos: encefalitis, meningitis aséptica y enfermedad febril con dolores de cabeza. El período de incubación varía entre 4 y 21 días. El comienzo de la enfermedad es brusco, con fiebre, mialgias, náuseas, vómitos y rigidez de nuca. La severidad de la enfermedad se incrementa con la edad, las personas mayores de 60 años tienen la más alta frecuencia de encefalitis¹.

En Argentina, estudios serológicos indicarían que el virus ESL posee una amplia distribución con una preva-

Recibido: 9-II-2000

Aceptado: 2-VI-2000

Dirección postal: Sra. Lorena Spinsanti, Instituto de Virología Dr. J.M. Vanella, Facultad de Ciencias Médicas, Agencia 04, Ciudad Universitaria, 5016 Córdoba, Argentina.
Fax: (54-0351) 4681270 e-mail: contigia@cmefcm.uncor.edu

lencia de anticuerpos en humanos que varía entre 3 y 50%².

En nuestro país hay escasos registros de encefalitis en humanos causada por este virus. Esto podría deberse a la probable acumulación de inmunidad con la edad, reduciendo de esta forma el tamaño de la población susceptible o quizás porque las cepas circulantes no poseen características de virulencia que conduzcan a la producción de brotes o epidemias, aunque la causa principal podría atribuirse a la falta de notificación y estudio de casos³.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la prevalencia de infección para el virus ESL en sueros humanos obtenidos en el Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica de la provincia de Formosa en los años 1995 y 1997.

Materiales y métodos

Area de estudio: La zona de estudio corresponde al departamento Formosa, provincia de Formosa, Argentina. La misma forma parte de la región fitogeográfica del Chaco y presenta clima húmedo, con flora y fauna abundante.

Sueros humanos: Se estudiaron 284 y 157 muestras de suero extraídas al azar de pobladores del departamento Formosa entre 10 y 70 años, de ambos sexos, que asistieron al Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica, durante el mes de marzo de 1995 y de julio a septiembre de 1997 respectivamente. Las mismas se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento.

Virus: Se utilizó la cepa del virus ESL 78V6507 aislada de mosquito del género *Culex*⁴. El antígeno hemoaglutinante se preparó por la técnica de sacarosa-acetona a partir de cerebros de ratón albino suizo infectado⁵.

La suspensión viral para la prueba de neutralización (NT) se preparó a partir de cerebro de ratón infectado al 10% (peso/volumen) en medio esencial mínimo (MEM), con sales de Earle y l-glutamina, 10% de suero fetal bovino y antibiótico, centrifugada a 10 000 rpm durante 30 minutos.

Líquido ascítico hiperinmune (LAH): Se utilizó un LAH como control positivo para las diferentes reacciones, preparado según protocolo de Tikasingh y col.⁶ con la cepa viral ESL 78V6507 inoculada en ratones albinos suizos adultos. Como control negativo se utilizó líquido ascítico normal (LAN) obtenido de ratones no inoculados.

Pruebas serológicas: Se utilizó la técnica de neutralización de unidades formadoras de placas (ufp) en la línea celular VERO (riñón de mono verde africano) bajo agarosa⁷. En la prueba de tamizaje se utilizó la dilución 1:20 de cada suero y se consideraron positivos aquellos sueros que neutralizaban el 80% de las ufp incluidas en la prueba.

Los sueros correspondientes al año 1995, que resultaron positivos en el tamizaje por NT, se titularon por IH y NT, mientras que los del año 1997 sólo por NT (por escaso volumen de la muestra), utilizando diluciones seriadas de factor 2.

La IH se realizó siguiendo los protocolos de Clarke y Casals, con modificaciones de Shope⁸ para el uso en microtécnica. Para esta prueba el título del suero fue la mayor dilución que inhibió la hemoaglutinación frente a 4 unidades hemoaglutinantes de antígeno.

Análisis estadístico: Los resultados de prevalencia de anticuerpos NT para el virus ESL en los diferentes años se analizaron estadísticamente utilizando la prueba de hipótesis de diferencias de proporciones poblacionales⁹.

Resultados

En las Figuras 1 y 2 se registran los porcentajes de la distribución de títulos de los sueros positivos por NT obtenidos en el Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica del departamento Formosa en los años 1995 y 1997. Los resultados muestran un aumento de seroprevalencia entre estos años, 21% (60/284) y 32% (50/157) respectivamente. Se puede observar un porcentaje similar de sueros con títulos entre 1/20 y 1/40 en los años 1995 y 1997, mientras que durante este último período fue mayor el porcentaje de títulos neutralizantes iguales o mayores a 1/80 con respecto al período 1995.

Las relaciones entre los títulos obtenidos simultáneamente por IH y NT en 24 sueros positivos por NT del año 1995 se muestran en la Tabla 1. No se detectaron anticuerpos IH en 4 sueros que poseían títulos bajos de anticuerpos NT (1/20-1/40), mientras que 2 sueros con títulos NT entre 1/160-1/320 presentaron títulos iguales

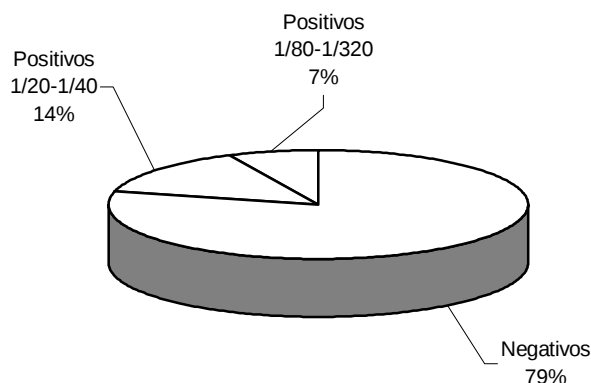


Fig. 1.— Distribución de títulos de anticuerpos neutralizantes para el virus ESL en sueros humanos del departamento Formosa, año 1995

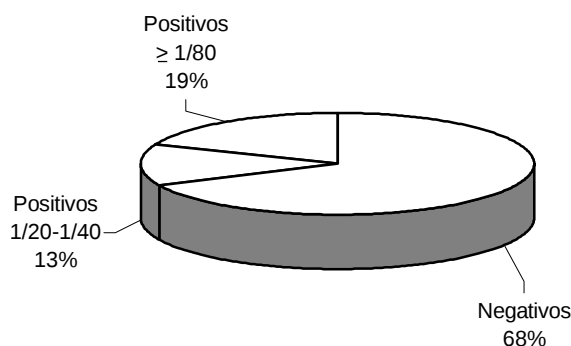


Fig. 2.— Distribución de títulos de anticuerpos neutralizantes para el virus ESL en sueros humanos del departamento Formosa, año 1997

o mayores a 1/80 en IH. Finalmente, los 18 sueros restantes presentaron títulos de anticuerpos que variaron en ambas pruebas entre 1/10 en IH y 1/320 en NT.

El análisis estadístico de la prevalencia de anticuerpos para el virus ESL mostró diferencias significativas entre los valores correspondientes a los años 1995 y 1997 ($p < 0.0075$).

Discusión

Es bien reconocido el valor del hallazgo de anticuerpos específicos tanto en el diagnóstico como para estudios epidemiológicos de las infecciones a virus. Con el virus de la ESL los ensayos de inhibición de la hemoaglutinación (IH) y neutralización (NT) han sido particularmente útiles y han permitido establecer la presencia de esta infección en diversas especies animales y en humanos de las zonas más variadas. La NT es la prueba más específica. Los anticuerpos NT aparecen durante la primera semana y persisten muchos años, generalmente toda la vida¹.

Los resultados obtenidos en este estudio, muestran que la prevalencia de anticuerpos NT en la población estudiada del departamento Formosa se incrementó aproximadamente un 10% en 2 años.

La mayoría de los sueros del año 1995 presentaron títulos de anticuerpos NT bajos (1/20 y 1/40), mientras que en el año 1997 el 19% de los sueros tenían títulos de anticuerpos mayores o iguales a 1/80. Los sueros con títulos elevados de 1/80 en IH y 1/320 en NT (Tabla 1) podrían indicar que se trataría de infecciones recientes, mientras que el registro de títulos bajos por IH y NT estarían detectando ya sea infecciones recientes en los cuales los anticuerpos se encuentran en la zona ascendente de la curva, o bien de infecciones ocurridas con

anterioridad en las cuales los títulos de anticuerpos han comenzado a descender. Por último, los sueros negativos en IH y positivos en NT serían las infecciones más lejanas en el tiempo. Esta situación debe ser discriminada mediante la detección de IgM específica en la misma muestra sérica.

Estos resultados indican que este agente es endémico en la zona manteniéndose en focos enzoóticos por tiempos prolongados.

La ausencia de casos clínicos en nuestro país indicaría que la infección se produce en edades tempranas, con la consiguiente acumulación de inmunidad con la edad. Deberían estudiarse las personas mayores de 60 años que representan el grupo de edad más susceptible a la enfermedad clínica.

Continuamente las áreas de salud informan sobre la ocurrencia de infecciones febriles con leve compromiso neurológico, que quedan diagnosticadas clínicamente como de posible etiología viral. Los resultados aquí obtenidos muestran la necesidad de realizar la vigilancia de meningitis asépticas y síndromes febriles inespecíficos en focos de alta prevalencia para establecer la real importancia en salud pública de este virus en el país.

Bibliografía

1. Monath TP, Heinz FX. Flavivirus. In: Fields BN et al. (eds.) Virology II, Third Edition, Philadelphia: Lippincott Raven 1996, Chapter 31, p 961-84.
2. Sabattini MS, Monath TP, Michell CJ, et al. Arbovirus investigations in Argentina, 1977-1980. Historical Aspect and Description of Study Sites. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 937-44.
3. Sabattini MS, Avilés G, Monath TP. Historical, epidemiological and ecological aspects of arbovirus in Argentina: Flaviviridae, Bunyaviridae and Rhabdoviridae. In: Travassos da Rosa A.P.A., et al. (eds). Overview of arbovirology in Brasil and neighboring countries. Belén, Brasil: Instituto Evandro Chagas, 1998, p 113-34.
4. Mitchell CJ, Monath TP, Sabattini MS, et al. Arbovirus investigations in Argentina, 1977-1980. II. Arthropod collecting and virus isolations from Argentine mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 945-55.
5. Shope RE. The use of a microhemagglutination inhibition test to follow antibody responses, after arthropod-borne virus infection in a community of forest animals. *Ann Microbiol* 1963; 167-72.
6. Tikasingh ES, Spence L, Downs WG. The use of adjuvant and sarcoma 180 cells in the production of mouse hyperimmune ascitic fluids to arboviruses. *Am J Trop Med Hyg* 1966; 15: 216-9.
7. Glowacki G, Spinsanti L, Basualdo MA, Díaz G, Contigiani MS. Prevalencia de anticuerpos contra Flavivirus en jóvenes voluntarios ingresantes al servicio militar de la provincia de Formosa, Argentina. *Rev Arg Microb* 1998; 30: 170-75.
8. Berenson ML, Levine DM. Pruebas de Hipótesis II- Procedimientos Adicionales. En: Estadística para la administración y economía, México: Prentice Hall Hispanoamericana, Sexta Edición, 1996; capítulo 15, p. 611-5.

TABLA 1.— Títulos de anticuerpos inhibidores de hemoaglutinación (IH) y neutralizantes en sueros positivos en el tamizaje por neutralización (NT). Año 1995

Títulos IH		Títulos neutralizantes					Número
Número	Título*	20	40	80	160	320	
4	<10**	3	1	-	-	-	4
11	10	3	5	1	-	2	11
5	20	-	1	1	-	3	5
2	40	-	1	-	-	1	2
2	80	-	-	-	1	1	2
Total: 24							24

* Los títulos se expresan como las recíprocas de las diluciones de los sueros

** < 10: negativo