
Prevalencia de Anticuerpos VEE y EEE en Población Humana y Equina de la Selva Peruana

María R. Méndez López *

RESUMEN

El complejo de virus de encefalitis equina venezolana (VEE) está integrado por los serotipos antigénicos 1AB, 1C, 1D, 1E de los cuales los únicos relacionados con epizootias son los serotipos 1AB y 1C. En el Perú el virus epizootico ha hecho su aparición esporádica desde la década de los 30, siendo la última incursión epizootica en el año 1973 por el serotipo 1AB. En Loreto, departamento de la Selva peruana, durante 1973 se identificó el serotipo ID enzootico, asociado a cuadros febriles en humanos, sin embargo encuestas serológicas previas muestran anticuerpos VEE, entendiéndose que su presencia tiene una antigüedad pasada no determinada. El estudio tiene la finalidad de comparar la magnitud de la circulación de las cepas selváticas de la VEE en humanos y equinos, principalmente en las áreas tropicales donde hay una significativa población equina, considerándose este hecho de riesgo para la aparición de cepas epizooticas. Así mismo, se ha considerado también la encefalitis equina del Este (EEE), virus que ha causado epizootia equina en la selva y cuya participación en la patología humana aún no ha sido definida. Los resultados encontrados mediante prueba de neutralización en placa de VEE y EEE en células YERO con sueros humanos muestran una variada prevalencia. Siendo la más alta para VEE en el departamento de San Martín 57% y EEE en el departamento de Loreto 62% y con relación a equinos VEE 68% y EEE 65% ambos en el departamento de Loreto.

Palabras Clave: VEE, EEE, anticuerpos, población humana, población equina.

ABSTRACT

The Venezuelan Encephalitis virus (VEE) complex include 1AB, 1C, 1D, 1E serotypes, but the 1AB and 1C serotypes are the only one related to epizooties. In Peru, the epizootic virus appeared in the 30th and the last appearance was in 1973 and the serotype isolated was 1AR. In Loreto in the Peruvian jungle was isolated VEE ID serotype from human febrile illness; however, previous surveillance founded VEE antibodies in the same area. In this study we want to know the prevalence of VEE and Eastern Equine Encephalitis virus (EEE) antibodies in humans and equines for the jungle area where the equine population were increasing lately. Using neutralization test by plaque reduction we founded a variety of prevalence. In the human sera the highest prevalence for VEE was 57% in San Martín and for EEE was 62% in Loreto. In equines sera the highest prevalence for VEE was 68% and for EEE was 65% in Loreto.

Key Words: VEE, EEE, antibodies, human population, equine population

INTRODUCCIÓN

Las encefalitis equinas son entidades clínicas producidas por virus de la familia *Togaviridae*, incluye tres serotipos, virus de la encefalitis equina Venezolana (VEE), virus de la encefalitis equina del Este (EEE) y virus de la encefalitis equina del Oeste (EEO), siendo la de mayor importancia epidemiológica VEE.

VEE es una enfermedad emergente producida por virus de un complejo de arbovirus que causan epidemias periódicas y epizootias equinas en América desde la década de 1920, con diversos grados de severidad con relación a la morbimortalidad.

En el Perú existe información sobre epizootias de VEE en la costa norte desde 1932 (1) sin embargo no se tiene referencias de casos humanos sino hasta 1969, en el que se confirmaron 43 casos que se presentaron en el departamento de Tumbes entre los meses de marzo a mayo, a fines de la estación lluviosa, también hubo 1150 casos entre caballos y asnos. Los síntomas en humanos

* Instituto de Investigación, Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Humana USMP

consistieron principalmente en fiebre (100%) y convulsiones (86%), considerándose que los casos menos severos no concurren al hospital (2). En ese mismo año los países limítrofes del norte presentaron epizootias, comprometiendo en nuestro país a los departamentos de Tumbes y Piura, siendo la última epizootia en 1973.

En 1969, Madalengoitia y col. realizaron una encuesta serológica en humanos de la selva amazónica y en las faldas de la vertiente oriental de los andes (selva alta). Encontrando que principalmente en la llanura amazónica el 15% de los sueros estudiados tenían anticuerpos a título elevado por prueba de inhibición de la hemoaglutinación ($> 1:40$) no así en la selva alta (4). Recién en 1970, Sherer y col. aislaron virus selvático VEE y EEE de mosquitos y hámsters centinelas en el Dpto. de Loreto (5). Posteriormente en 1979 Méndez y col. encontraron que en el Dpto. de San Martín de 64 sueros estudiados cinco de ellos tenían títulos IH $> 1:40$ (6). Estudios posteriores de caracterización genética han determinado que la cepa responsable de las epizootias en Piura son de tipo 1-AB y que la cepa selvática es de tipo 1-D (7).

En 1995, VEE se produjo en forma epidémica en Venezuela y Colombia con más de 20 muertes durante los meses de Agosto y Setiembre *con aparición brusca y desaparición rápida*. Los virus recuperados corresponden al serotipo 1-C semejante al serotipo que circuló entre 1961-1964.

Otro virus que viene circulando es el VEE - IE subtipo identificado *como* enzootico sin embargo produjo epizootias leves de equinos en México 1993-1996, este serotipo ha producido casos humanos similares a la producida *por* cepa epidémica (9). A partir de 1993 durante la vigilancia en el Perú de casos febriles en el Departamento de Loreto, Watts y col. encontraron casos leves de VEE, principalmente en varones, se presenta durante todo el año y sin preferencia estacional. Esta cepa determinada *como* 1- D tiene algunas variables filogenéticas con relación a la cepa recuperada en 1973. Hasta la fecha el virus VEE-ID enzootico ha sido encontrado en la Amazonía con dos genotipos; uno denominado colombiano-venezolano de circulación en los años 70 y otro de origen panameño encontrado en los 90. Ambos están asociados a cuadros febriles en el Departamento de Loreto (10). Con relación a la infección equina por EEE en 1979 en el Departamento de San Martín se confirmó una epizootia en el valle del río Mayo con dos equinos fallecidos y ocho enfermos, a consecuencia de la compra de caballos para fines agrícolas de otras áreas probablemente no endémicas (6). Para prevenir la VEE en equinos se usa vacunación con virus vivo atenuado cepa TC-83 de amplio empleo (11).

Aspectos ecológicos y virológicos de VEE

Los brotes epidémicos de VEE se presentan en zonas tropicales y subtropicales, .en donde las lluvias son estacionales y concentradas en corto plazo, que favorecen la formación temporal de criaderos de mosquitos al nivel del suelo y un rápido ascenso de la población de los vectores. Estas zonas corresponden en los mapas con el sistema de formación de vegetales de Holdrige denominados, matorral desértico, espinoso, bosque muy seco dentro de alturas de 0-1200 msnm. En el Noroeste del Perú, el régimen de lluvias es bien definido, se inicia en Enero y continua hasta Abril, con un máximo de precipitaciones entre Febrero y Marzo; por el contrario, las situaciones de endemidad corresponden a zonas en las cuales existen condiciones continuas que favorecen una población permanente de mosquitos como es el caso de pantanos, márgenes fluviales o de ciénagas donde hay abundante vegetación que hace propicia la presencia de Culex (mellanoconium) de diversas especies que actúan como transmisores entre vertebrados silvestres, estas zonas en los mapas ecológicos mencionados corresponden a bosque húmedo, en ellas solo se producen brotes cuando hay ingreso de población humana y equina susceptible, como ocurre en la selva alta y baja de nuestro territorio.

El virus VEE pertenece al grupo de los alphavirus y esta incorporado en un complejo de 5 variantes antigénicas geográficas y subtipos 1AB, 1C, 1D y 1E. Tres de estas variedades fueron epidémicas-epizooticas y las otras dos causaron focos endémicos-enzooticos con esporádica enfermedad humana y equina. Las variedades enzooticas de la VEE se mantienen entre roedores de campo y mosquitos Culex.

Por razones no explicadas aun, el ciclo natural de las variedades epizooticas no ha sido localizada y se desconoce donde está el virus en las épocas interepidémicas. Molecularmente las cepas epizooticas: IAB, IC y ID se originan de un progenitor común pero cuando IAB y IC aparecen repentinamente en epizootias probablemente no sean a consecuencia de mutaciones directas del

virus ID enzootico.

En el laboratorio los arbovirus se recuperan de la sangre durante la fase febril o del cerebro durante la necropsia, inoculando en ratones, hámsters, células VERO y BHK21 así como en líneas celulares de mosquitos, el diagnóstico serológico se hace usando ELISA e IH. La demostración de IgM es una evidencia presuntiva de infección reciente. La prueba de neutralización sigue siendo la de mayor especificidad y se emplea para estudios de prevalencia (12).

Aspectos ecológicos y virológicos de EEE y EEO

El complejo EEE incluye variantes antigénicas de Norte y Sudamérica; estudios filogenéticos demuestran tres grupos monofilogenéticos, el grupo de las cepas norteamericanas que han sido aisladas en USA y el Caribe; el grupo Sudamericano que han sido aislados en la cuenca amazónica de Brasil y Perú y el segundo grupo Sudamericano de virus aislados en Argentina, Guyana, Ecuador, Panamá, Trinidad y Venezuela (13).

EEE produce epizootias en equinos desde 1831 y el primer caso humano confirmado fue en 1938 en USA. Los vectores involucrados durante las epizootias son: *Culiseta melanura* y otras especies del mismo género así como de los géneros *Culex* y *Aedes*; en 1991 la epizootia de EEE en USA, involucró a *Coquillettia perturbans*, y los proveedores de virus fueron diversas especies de pájaros de las ciénagas marinas (14).

En el Perú las cepas enzooticas de EEE han sido recuperadas de distintas especies de *Culex* (mel) en el departamento de Loreto (comunicación personal, Dr. Roberto Fernández - Namrid); sin embargo, aún no se conoce la presentación clínica humana.

El complejo EEO tuvo su primer reconocimiento en el Estado de California USA, el virus se aisló del cerebro de un caballo en 1930 en el que murieron 6000 equinos; los cuadros más severos en humanos se han producido en infantes como se observó en la epidemia de USA en 1941 Ohio-USA. El ciclo natural se mantiene entre pájaros y mosquitos *Culex tarsalis*. En Centro y Sudamérica se observan casos esporádicos en caballos y humanos.

Recientes aislamientos de virus de formas adultas de mosquitos *Aedes dorsalis* colectados como larvas de áreas salobres de las costas californianas ponen en evidencia la transmisión vertical de EEO en mosquitos (15). En el Perú aún no se ha demostrado infección en humanos o equinos por este serotipo.

El presente estudio tiene por objetivo determinar prevalencia de anticuerpos neutralizantes EEE y VEE en humanos y equinos de los Departamentos de la selva, San Martín, Amazonas, Loreto y Ucayali.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación geográfica del área de estudio

El clima de la selva es tropical amazónica (los lugares de estudio están asociados al río Amazonas y sus tributarios) la temperatura media es de 25°C, ecológicamente corresponde a dos regiones; la selva baja u Omagua entre los 80 a 400 msnm y la selva alta o Rupa Rupa entre los 400 a 900 msnm que corresponden a las faldas de la cordillera oriental de los andes (17).

La población rural se dedica principalmente a la agricultura de carácter extensivo con poca variedad por las condiciones del clima y la orografía. Producen maíz, arroz, cacao, café, yuca, frijol, plátano, piña, etc. La ganadería es poco desarrollada por falta de razas adecuadas a las condiciones climáticas.

Se muestrearon 417 sueros de la población humana principalmente mayores de 15 años residentes en las áreas rurales, con excepción de 100 sueros obtenidos en Iquitos que corresponden a escolares entre 12 y 17 años residentes en el área urbana. Asimismo, 633 sueros de equinos todos mayores de 2 años, no vacunados contra VEE, que habitan en las áreas rurales.

El método serológico empleado ha sido la prueba de Neutralización por reducción de placa en células Yero (18), estandarizado para arbovirus por Earley y col. en 1967 y modificado en NAMRID (Instituto de Medicina tropical de los EE. UD. con sede en el Centro Médico Naval).

Departamento	Long	Lat	Altº (m.s.n.m)	Población humana	Población equina
Amazonas	78º	5º	Bagua (420)	28,992	1,000
San Martín	77º	7º	San Martín (330) Moyobamba (860)	54,660 37,992	1,000 2,000
Loreto	75º	4º	Yurimaguas (182)	50,569	400
Ucayali	75º	8º	Pucallpa (200)	170,323	400

Los antígenos stock fueron: Antígeno VEE aislado de paciente en células C6-36 tercer pasaje (cepa Iquitos NAMRID 1998), pasado en ratones blancos recién nacidos y cosechados a las 24 horas, suspendido en E-MEM con suero bovino fetal al 2% a una suspensión de cerebro del 10% y conservado a congelación a -70° C. Antígeno EEE; aislado de garrapata Anocentor nitens en células C6-36 tercer pasaje (cepa San Martín NAMRID 1997) pasado en ratones blancos y procesado en igual forma que el anterior.

Se determinó la unidad formadora de placa (pfu) para cada cepa en placas de 12 cavidades en cultivo de células VERO, antígeno VEE título: y antígeno EEE título: Posteriormente se enfrentó 30 unidades PFU con la dilución 1:30 de cada suero humano y 1:30 de cada suero equino. Se consideró positivo a las muestras que redujeron el 100% de las placas. La lectura se realizó al tercer día.

RESULTADOS

Con relación a las muestras humanas, 16% de los sueros estudiados tienen anticuerpos neutralizantes contra VEE y 50% contra EEE, observándose claramente una mayor prevalencia de EEE (Cuadro 1). Respecto a los sueros equinos 17% tiene anticuerpos contra VEE y 34% contra EEE (Cuadro 2). Sin embargo, en los resultados individualizados por provincias se observa en equinos una amplia variedad porcentual de anticuerpos para ambos virus; En Rioja y Moyobamba por ejemplo hay mayor prevalencia con un aproximado de 27% de positividad para VEE y 50% para EEE (Cuadro 3).

Cuadro 1.- Prueba De Neutralizacion Por Reduccion De Placa En Celulas Vero De Vee Y Eee Contra Sueros Humanos De La Selva Peruana, 1999. N = 417

PROCEDENCIA (Departamento/Lugar)	VEE	EEE
Amazonas (Bagua)	7 (9/123)*	28 (35/123)
San Martín (San Martín)	57 (27/47)	54 (26/47)
Ucayali (Pucallpa)	0 (7)	0 (7)
Loreto (Yurimaguas/Iquitos)	12 (30/240)	62 (150/240)
TOTAL	16 (66/417)	50 (211/417)

Cuadro 2.- Prueba De Neutralizacion Por Reduccion De Placa En Celulas Vero De Vee Y Eee Contra Sueros Equinos De La Selva Peruana, 1999.

N = 633

Procedencia (Departamento/ Lugar)	VEE	EEE
San Martín (Rioja/ Moyobamba / El Dorado/ San Martín/Huallaga/		
MrcI. Cáceres/ Picota/ Bellavista/ Tocache)	14(86/596)*	32(191/596)
Loreto (Yurimaguas)	68 (25/37)	65 (24/37)
TOTAL	17 (111/633)	34 (215/633)

Cuadro 3.- Prueba De Neutralizacion Por Reduccion De Placa En Celulas Vero De Vee Y Eee Contra Sueros Equinos En Provincias Del Departamento De San Martin, 1999.
N = 596

Provincias	VEE	EEE
Rioja	28 (24/85) *	61 (52/85)
Moyobamba	26 (36/137)	47(65/137)
El Dorado	0(0/9)	0 (0/9)
San Martín	13 (18/137)	23 (32/137)
Huallaga	5(5/91)	19 (17/91)
Mariscal		
Cáceres	4(3/70)	19 (13/70)
Picota	0 (0/30)	0 (0/30)
Bellavista	0 (0/4)	0 (0/4)
Tocache	0 (0/33)	36 (12/33)
Total	14 (86/596)	32 (191/596)

*% (Número de positivos/Número de muestras)

DISCUSION

Desde los hallazgos de Madalengoitia (9) y Sherer (5) en los años 70 que encontraron evidencias serológicas y virológicas de la circulación de VEE y EEE selváticos en el Perú como en otros países de América, estas áreas son consideradas de riesgo de infección equina y humana.

Los casos esporádicos de VEE humanos encontrados por Watts y col. (10) así lo demuestran, sin embargo desde que se ha incorporado a la ecología local el VEE subtipo panameño es posible así mismo el ingreso o la aparición local de subtipos de mayor patogenicidad, considerando que actualmente no cabe duda sobre el origen enzootico de las cepas epizooticas.

Si bien los estudios previos mediante prueba de IR muestran una baja prevalencia principalmente de VEE en la Amazonía, es posible que en la Selva alta considerando la ampliación de las áreas de cultivo del arroz que propician el aumento de vectores sobre todo en áreas con gran número de equinos en los últimos veinte años el riesgo sería mayor. Los resultados encontrados en este estudio demuestran en la ausencia de brotes, que en la Amazonía VEE y EEE presentan caracteres de endemicidad.

En repetidas oportunidades se ha postulado que con el aumento de la población equina en la selva las posibilidades de mutación del virus VEE enzootico a epizootico serían mayores, sin embargo parece ser que hay otros requisitos necesarios para este suceso.

La evidencia de infección de VEE y EEE en áreas cercanas a los 900 msnm como en Moyobamba y Rioja demuestran que los vectores y reservorios de estos virus o no son tan estrictos en cuanto altitud geográfica o han incorporado otras especies en su mecanismo de transmisión. Como en otras arbovirosis el mantenimiento del virus entre vectores y reservorios y el grado de endemicidad pueden abarcar reductos muy pequeños por lo que generalizar los hallazgos en el ámbito regional hace perder la significación de los mismos; esto se deriva de los hallazgos de la variada prevalencia tanto de VEE como EEE entre las provincias del departamento de San Martín.

Es importante añadir que con estos resultados, a pesar de que la población humana estudiada no es muy amplia, parece ser que las cepas enzooticas de EEE en Loreto donde hay pocos equinos, estaría utilizando vectores antropofílicos eficientes, siendo necesario estudiar la posibilidad de infección humano-mosquito-humano. Con relación al programa de inmunización contra VEE en equinos es importante mantener adecuada cobertura para disminuir el riesgo de la aparición de cepas epizooticas equinas en la costa norte.

CONCLUSIONES

Actualmente no hay evidencia clínica de la circulación de cepas epizooticas de VEE en el Perú, sin embargo las cepas enzooticas de VEE y EEE circulan en la selva con una prevalencia serológica de 20% aproximadamente para VEE y 40% para EEE entre equinos y humanos, probablemente causando cuadros inaparentes, a diferencia de las cepas enzooticas IE que recientemente han mostrado neuropatogenicidad en humanos en México. Es importante realizar una vigilancia de cuadros febriles entre humanos y equinos para determinar las características clínicas y epidemiológicas de las mismas.

BIBLIOGRAFIA

1. Preston R. Meningo-encefalitis en el caballo. Bol Direc Agri Gan (Lima) 11&12: 249-90, 1933.
2. Madalengoitia J. y col. An outbreak of Venezuelan encephalitis virus in man in the Tumbes Department of Perú. PARO Proceedings of the Workshop. Symposium on Venezuelan Encephalitis virus Washington De. 1971.
3. Bullon F y col. Estudio Epidemiológico de la Encefalitis Equina Venezolana en el Perú 1973. Informe Interno - Ministerio de Salud, Lima-Perú. 1973
4. Madalengoitia J. Venezuelan encephalitis antibody patterns in Perú. PARO Proceedings of the workshop - Symposium on Venezuelan Encephalitis virus. Washington De. 1971.
5. Scherer W y col. Study of VEE virus and isolations of SLE, EEE and group C and Guama group arboviruses in the Amazon region of Perú, 1975. Bull Pan Am Health Org 13: 272-284. 1979.
6. Méndez M. y col. Brote de encefalitis equina del este en el departamento de San Martín - Perú, 1979. Bol Inst Nac Salud 3: 108-112. 1982.
7. Young N, Johnson K. Antigenic variants of Venezuelan equine encephalitis virus, their geographic distribution and epidemiologic significance. Am J Epidemic 89: 286-307, 1969.
8. Weaver, S. y col. Re-emergence of epidemic Venezuelan equine encephalomyelitis en South America. Lancet 348: 436- 440, 1969.
9. OPS. Encefalitis equina Venezolana en Mexico (Documento oficial). 1996.
10. Watts D. y col. Venezuelan equine encephalitis febrile cases among humans in the peruvian amazon river region. Am J Trop Med. Hyg 58: 35-40, 1998.
11. Spertzel R, Kahn, D. Safety and experience of an attenuated VEE vaccine for use in equinae. J A.n Vet Med. 159: 375-378. 1971.
12. Earley E. y col. A plaque neutralization method for arbovirus. Proc Soc Exp Biol Med 125: 741-747, 1967.
13. Weaver S. y col. Evolution of alphaviruses in the eastern equine encephalomyelitis complex. J Virol 68: 158-169, 1994.
14. Nasci R. y col. Eastern equine encephalitis virus in Ohio during 1991. J Med Entomol 30: 212-222, 1993.
15. Fulhorst C. y col. Natural vertical transmisión of Western equine encephalomyelitis virus in mosquitoes. Science 263(5147): 676-678, 1994.
16. Instituto Geofísico Nacional, Atlas del Perú 1989.
17. Atlas Universal y del Perú Editorial Bruño 1995.