

## **Encefalitis equina venezolana. Estudio serológico en aves de la región de la Guajira Venezolana, durante un brote epidémico.**

*Armando Soto Escalona\**, *Linda Blitz-Dorfman\*\**, *Slavia Ryder\** y *Hugo Machado Paz\*\**.

\*Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo 4001-A, Venezuela y \*\*Cátedra de Virología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

**Resumen.** Para determinar el papel que algunas aves pudieran tener en el inicio y diseminación del virus de la Encefalitis equina Venezolana en períodos epidémicos, se estudiaron los sueros de 37 aves capturadas en zonas de actividad viral, durante una epidemia causada por este virus en la Guajira venezolana en el mes de octubre de 1973. Las muestras de suero fueron procesadas por el método de inhibición de placas bajo capa de agar, utilizando como antígeno virus de la encefalitis venezolana, cepa Guajira. No se observó reducción de placas en relación al virus control, por lo que se deduce que los sueros probados no poseían anticuerpos contra el virus. Aunque la muestra es muy pequeña, se podría concluir que estas aves podrían accidentalmente estar involucradas en el ciclo epidemiológico del virus, pero no jugarían papel importante en la diseminación.

### **Serological survey in birds during an outbreak of Venezuelan equine encephalitis virus in the Venezuelan Guajira.**

*Invest Clin 17(3): 128-133, 1976.*

**Summary.** In order to determine the role of some birds in the development or dissemination of the VEE virus during an outbreak, 37 bird sera were surveyed for antibodies against VEE virus, in the middle of an epidemic of Venezuelan encephalitis occurred in October 1973 in the Venezuelan Guajira. Antibodies against VEE virus were tested by the plaque reduction method in chick embryo fibroblasts under agar overlay. The challenge virus used was the Guajira strain of VEE virus. The sera tested did not reduced the number of virus plaques as compared with the control virus, thus showing absence of demonstrable antibodies. It looks like the birds tested

do not play, an important role in the epidemiologic cycle of the virus, though we recognize the paucity of the sample.

## INTRODUCCION

Ha sido demostrado que las aves juegan un papel importante en el ciclo epidemiológico de las encefalitis equinas del este y del oeste (10). Además, experimentalmente las aves han podido ser infectadas por el virus de la encefalitis equina venezolana (EEV) (2), ya sea por la inoculación del virus o por la picada de mosquitos infectados. El título del virus circulante en la sangre de las aves fue suficiente para infectar mosquitos normales, y éstos a su vez fueron capaces de transmitir la enfermedad a nuevas aves. Es interesante señalar que las aves infectadas no presentaron ningún síntoma de encefalitis, lo que significaría que podrían constituir buenos reservorios del virus. Además, el virus de la EEV ha sido aislado en la naturaleza de aves silvestres en México (3) y Panamá (4), en habitat endémicos del virus. Existen así, indicios de que las aves bien pudieran jugar un papel en el inicio y diseminación del virus de la encefalitis venezolana durante periodos epidémicos.

Para aportar datos sobre la validez de esta idea, se capturaron aves durante la epidemia de EEV ocurrida en 1973 en la Guajira venezolana, y se estudiaron para determinar si poseían anticuerpos contra el virus.

## MATERIAL Y METODOS

En el mes de octubre de 1973 se inició un brote de encefalitis venezolana en animales y humanos en la zona de la Guajira, situada al norte del Estado Zulia. Durante el desarrollo de esta epidemia se cazaron 37 aves en zonas con actividad viral, a lo largo de la costa del Golfo de Venezuela, y en algunas lagunas interiores de la Guajira. Las aves fueron sangradas por punción cardíaca, inmediatamente después de su captura. La sangre fue colectada sin anticoagulante y guardada en hielo hasta su traslado al laboratorio. Luego de centrifugado, el suero fue guardado a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la prueba.

**Virus.**- Se utilizó virus de la encefalitis equina venezolana, cepa Guajira, obtenida por cortesía del Dr. Gernot Bergold, del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, como primer pasaje en cerebro de ratón lactante. En nuestro laboratorio fue cultivado una vez en cerebro de ratón lactante, una vez en huevos embrionados, y finalmente en células Vero. Para el momento de su uso el virus tenía un título de  $10^{8.3}$  unidades formadoras de placas/ml (ufp/ml), titulado en fibroblastos de embrión de pollo. Para la prueba se utilizaron 1000 ufp/ml.

**Prueba de inhibición de placas.**- Los sueros fueron diluidos 1:8 con una solución de buffer de fosfa-

to 0,01M, NaCl 0,15M, pH 7,4; adicionado de gelatina al 0,5% e inactivados a 56°C por media hora.

Los sueros inactivados fueron mezclados con partes iguales de una dilución del virus que contenía 1000 ufp/ml. La mezcla virus-suero fue incubada toda la noche a 4°C. A la mañana siguiente se inoculó la mezcla en fibroblastos de embrión de pollo, cultivados en paneles plásticos desechables (Linbro-Chemical). Se permitió un período de adsorción a 37°C por 45 minutos, luego de lo cual se le añadió el medio nutritivo con la siguiente composición: glucosa 200 mg, hidrolizado de lactalbúmina 300 mgs, suero de ternera 2 ml, penicilina 10 u/ml, streptomina 10 mcg/ml, agar 1,5 grs y solución de Hanks c.s.p. 100 ml. Los paneles fueron incubados a 35°C por 48 horas, al cabo de lo cual se leyeron las placas formadas. Se utilizó un control compuesto por virus de EEV mezclado con suero de aves sin anticuerpos contra el virus.

### RESULTADOS

En la Tabla I se detallan las aves estudiadas y el lugar de procedencia. En ninguna de las muestras hubo reducción del número de placas en relación al virus control, por lo que se deduce que los sueros estudiados no poseían anticuerpos contra el virus de la encefalitis venezolana.

### DISCUSION

La zona de la Guajira venezolana es una región desértica, de vegetación xerófila. Posee muchas lagunas

de aguas salobres las cuales permiten la cría de mosquitos por largo tiempo, aún después de haber finalizado la época de lluvias. También abundan los manglares y la Pistia stratiotes (lechuga de agua), bajo cuyas hojas se ha demostrado la multiplicación del Culex (Melanocnion) aikenni. En estudios realizados en Panamá (5) se ha logrado el aislamiento del virus de la EEV a partir de estos mosquitos.

La periodicidad con que se producen las epidemias de EEV en esta zona de la Guajira (8) denotan una entrada del virus a partir de un foco latente, el cual pudiera estar presente en dicha zona o ser transportado por aves o animales silvestres, desde lugares mas lejanos. Es conocido que los vertebrados silvestres, especialmente roedores, juegan papel importante en el ciclo epidemiológico de la EEV (7); sin embargo, aún queda por demostrar el papel que pudieran jugar las aves en este transporte.

En nuestro estudio, hecho en, pleno período epidémico, no se encontraron anticuerpos contra el virus de la encefalitis venezolana, a pesar de que el virus se hallaba circulando activamente. Esto pudiera deberse a que las aves fueran refractarias a la infección por el virus de la EEV. Sin embargo, el virus ha sido aislado de diferentes clases de aves (1, 3, 4) en Panamá, México y Venezuela. Además, existe suficiente evidencia serológica de la infección de aves con este virus, como se desprende de la epidemia que afectó a Texas en 1971 (13), de otras

**TABLA I**  
**AVES ESTUDIADAS DURANTE LA EPIDEMIA DE EEV EN 1973**

Nombre común	Nombre latino	Procedencia*
Gaviota	<i>Larus argentatus</i>	Caimare Chico
Gaviota	<i>Larus argentatus</i>	Caimare Chico
Patico	<i>Scolopacidae spp</i>	Caimare Chico
Patico	<i>Scolopacidae spp</i>	Caimare Chico
Gaviota negra	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviotín	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviotín	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviotín	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviotín	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviota pequeña	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Gaviotín	<i>Larus spp</i>	Caimare Chico
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Paraguaipoa
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Paraguaipoa
Garza	<i>Leucophoyx thula</i>	Laguna de Pájaros
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Laguna de Pájaros
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Laguna de Pájaros
Garza	<i>Leucophoyx thula</i>	Sichipez
Garza garrapatera	<i>Bubulcus ibis</i>	Jurubá
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Los Mochos
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Los Mochos
Garza garrapatera	<i>Bubulcus ibis</i>	Yaguasirú
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	Wichepe
Garza blanca	<i>Casmerodius albus</i>	La Gloria
Garza garrapatera	<i>Bubulcus ibis</i>	El Cañito

\* Distrito Páez del Estado Zulia

evidencias venezolanas en 1972 (6), y de trabajos experimentales (2).

Una segunda hipótesis tiene basamento en los hábitos de alimentación de los mosquitos. Las aves capturadas probablemente anidan y tienen contacto con la vegetación acuática, pero no son picadas por los mosquitos por sus características de vida.

En los ciclos enzoóticos-endémicos del virus, se ha demostrado que el *Culex* (*Melanoconion*) *aikenni* constituye uno de los vectores principales (5), y este mosquito posee una predilección ligera por mamíferos más que por aves; aunque entre estas últimas las garzas son sus huéspedes más comunes. En los periodos epidémicos los mosquitos más frecuentemente involucrados son *Psorofora canfinis* (11, 12) y *Aedes taeniorhynchus* (9), éste último con gran rango de huéspedes incluyendo las aves. Esta hipótesis no puede ser corroborada hasta no tener mayor información sobre los hábitos tanto de los mosquitos como de las aves de la región.

También pudiera invocarse, para explicar la ausencia de anticuerpos contra el virus de la EEV, que la cantidad de virus inoculado en las picadas no fuera suficiente para inducir infección con la consiguiente elaboración de anticuerpos. Sin embargo, Chamberlain (2) ha demostrado experimentalmente que algunas aves pueden producir viremias suficientemente altas como para infectar nuevos mosquitos y transmitir la enfermedad; además se sabe que los vectores involucra-

dos contienen suficiente cantidad de virus para asegurar la transmisión.

De todas estas evidencias parece desprenderse la idea, ya asumada por otros autores (2), de que las aves podrían accidentalmente estar involucradas en el ciclo endémico del virus, pero no jugarían papel importante en la diseminación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- BRICEÑO-ROSSI A.L.: Estudio del virus encefalomielítico equino venezolano. La búsqueda y el estudio del virus en las aves del país. *Rev Vzlna SAS* 29:432-437, 1964.
- 2- CHAMBERLAIN R.W., KISSLING R.E., STAMM D.D., NELSON D.B., SIKES R.K.: Venezuelan equine encephalomyelitis in wild birds. *Am J Hyg* 63: 261-273, 1956.
- 3- DICKERMAN R.W., SCHERER W.F., MOORHOUSE A.S., TOAZ E., ESSEX M.E., STEELER E.: Ecologic studies of Venezuelan encephalitis virus in southeastern Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 21:66-78, 1972.
- 4- GALINDO P., SRIHONGSE S., DE RODANICHE E., GRAYSON M.: An ecological survey for arboviruses in Almirante, Panamá, 1959-1962. *Am J Trop Med Hyg* 15: 385-400, 1966.
- 5- GALINDO P., GRAYSON M.A.: *Culex* (*Melanoconion*) *aikenni*: natural vector in Panamá of endemic Venezuelan encephalitis. *Science* 172:594-595, 1971.
- 6- GODOY M.: Detección de anticuerpos específicos contra la encefalitis equina venezolana en suero de Rey

- Zamuro (*Sarcoramphus papa*). *Ciencias Vet* 3(3-4):181-186, 1973.
- 7- GRAYSON M.A., GALINDO P.: Epidemiologic studies of Venezuelan equine encephalitis virus in Almirante, Panamá. *Am J Epidemiol* 88: 80-96, 1968.
- 8- RYDER S.: Encefalitis equina venezolana. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad entre 1962 y 1971 en la Guajira venezolana. *Invest Clin* 13(3): 91-141, 1972.
- 9- SELLERS R.F., BERGOLD G.H., SUAREZ O.M., MORALES A.: Investigations during Venezuelan equine encephalitis outbreaks in Venezuela, 1962-1964. *Am J Trop Med Hyg* 14:460-469, 1965.
- 10- STAMM D.D., CHAMBERLAIN R.W., SUDIA W.D.: Arbovirus studies in south Alabama, 1957-1958. *The Auk* 83:84-97, 1966.
- 11- SUDIA W.D., LORD R.D., NEWHOUSE V.F., MILLER D.L., KISSLING R.E.: Vector-host studies of an epizootic of Venezuelan equine encephalomyelitis in Guatemala, 1969. *Am J Epidemiol* 93:137-143, 1971.
- 12- SUDIA W.D., NEWHOUSE V.F., BEADLE L.D., MILLER D.L., JOHNSTON Jr J.G., YOUNG R., CALISHER CH., MANESS K.: Epidemic Venezuelan equine encephalitis in North America in 1971: vector studies. *Am J Epidemiol* 101:17-35, 1975.
- 13- SUDIA W.D., MCLEAN R.G., NEWHOUSE V.F., JOHNSTON Jr J.G., MILLER D.L., TREVINHO H., BOWEN G.S., SATHER G.: Epidemic Venezuelan equine encephalitis in North America in 1971: vertebrate field studies. *Am J Epidemiol* 101:36-50, 1975.