

# Seroprevalencia del Virus de Encefalitis de San Luís en equinos del humedal "Abras de Mantequilla" en Ecuador

Seroprevalence of San Luis Encephalitis Virus in horses of the "Abras de Mantequilla" wetland in Ecuador

**Roberto Coello-Peralta**  
Universidad de Guayaquil (Ecuador)

**Betty Pazmiño-G mez**  
Universidad Estatal de Milagro (Ecuador)  
bettypazmino@hotmail.com

**Manuel González-González**  
Universidad de Guayaquil (Ecuador)

**Rosario Zambrano Bonilla**  
Universidad Nacional de Chimborazo (Ecuador)  
Escuela Superior Polit cnica de Chimborazo  
(Ecuador)

**Jennifer Rodas Pazmiño**  
Laboratorio Clínico "Pazmiño" (Ecuador)

**Karen Rodas Pazmiño**  
Laboratorio Clínico "Pazmiño" (Ecuador)

**Edgar Rodas-Neira**  
Laboratorio Clínico "Pazmiño" (Ecuador)

**Revista Cumbres Vol.4 N 2**  
Versión impresa ISSN 1390-9541  
Versión electrónica ISSN 1390-3365  
<http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres>

## RESUMEN

El Virus de encefalitis de San Luís (VESL) pertenece al complejo antigénico de la encefalitis japonesa (género Flavivirus, familia Flaviviridae) y produce desde cuadros febriles leves a casos graves con afectación al sistema nervioso central. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos IgM contra VESL en caballos de 5 zonas seleccionadas del humedal "Abrás de Mantequilla" en Ecuador; para ello se analizaron un total de 412 muestras de suero sanguíneo de equinos, mediante el método ELISA de bloqueo en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "LIP" de Guayaquil. Obteniéndose 12 muestras reactivas (2,9%). Las mismas que fueron analizadas en el Instituto de Virología J. M. Vanella de la Universidad de Córdoba (Argentina) por la técnica de Neutralización por Reducción del Número de Placas (NTRP), confirmándose 8 muestras reactivas contra el VESL (1,9%).

**Palabras clave:** Virus de Encefalitis de San Luís, ELISA, NTRP.

## ABSTRACT

The St. Louis encephalitis virus (SLEV) belongs to the antigenic complex of Japanese encephalitis (genus Flavivirus, family Flaviviridae) and produces from mild febrile cases to severe cases with involvement of the central nervous system. The objective of this study was to determine the presence of IgM antibodies against VESL in horses from 5 selected areas of the wetland "Abrás de Mantequilla" in Ecuador; for this, from a total of 412 samples of equine blood serum, they were analyzed by the blocking ELISA method at the National Institute of Hygiene and Tropical Medicine "LIP" of Guayaquil. As a result, it was obtained that 12 were reactive samples (2.9%). The latter were confirmed by the NTRP technique at the J. M. Vanella Institute of Virology of the University of Córdoba (Argentina), resulting in 8 positive samples against the VESL (1.9%).

**Key words:** St. Louis Encephalitis Virus, ELISA, NTRP.

## INTRODUCCIÓN

La Encefalitis de San Luís (ESL) forma parte del grupo de enfermedades conocidas como arbovirosis y es causada por el Virus de encefalitis de San Luís (VESL) perteneciente al complejo antigénico de la Encefalitis Japonesa, del género Flavivirus de la familia Flaviridae (Knipe DM. 2013).

La enfermedad causada por el VESL es una zoonosis cuyos hospederos amplificadores son las aves y su vector es un mosquito del género Culex; Sin embargo el hombre, también pueden ser infectados en forma indirecta o accidental (CDC, 2016). La ESL produce en humanos desde casos asintomáticos, y parecidos a la influenza, hasta producir casos graves de encefalitis, que pueden conllevar a la muerte. (OPS/OMS, 2017) (Beltrán F. 2015)

Actualmente se ha reportado la presencia de VESL en algunos géneros, especies de aves, algunas especies de mosquitos y mamíferos (Díaz LA. 2012) así mismo, se ha aislado el virus en garrapatas (McLean et al. 1985); en el año 2013 se identificó y aisló el VESL en un equino que murió de encefalitis en Minas Gerais de Brasil, siendo el primer caso reportado en el mundo (Rosa R, 2013). También es importante resaltar que el VESL es antigénicamente relacionado con otros flavivirus como los virus Dengue, Zika, West Nile, entre otros: los mismos que son endémicos, por lo que es trascendental su confirmación (Knipe DM. 2013).

El VESL se encuentra ampliamente distribuido en el continente americano y recientemente, se informó de brotes humanos en Argentina en el 2005 y 2010 (Spinsanti L. 2008) (Seijo A. 2011), en Brasil en el 2006 (Mondini A. 2007) y en Uruguay en el 2001 (Delfaro A. 2012) (D. Epidemiología, 2012). Se ha determinado la presencia serológica de anticuerpos contra el VESL en equinos de Uruguay durante el 2007 (Burgueño 2013), en Brasil entre el 2004 al 2009 (Silva, 2014) y en el Caribe Colombiano, entre el mes de agosto del 2006 y octubre del 2007 (Álvarez J, 2012). En Ecuador en la parroquia de Manglaralto, en 1978 se aisló el VESL en mosquitos y se detectó anticuerpos en humanos (Gutiérrez, 1981).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio de estudio fue, El humedal "Abrás de Mantequilla" el cual en toda su extensión presenta un conjunto de lagunas permanentes, sabanas y bosques sub-húmedos tropicales; su jurisdicción la conforman los cantones Vinces, Pueblo Viejo y Baba. Posee una superficie de 67.177 hectáreas y está conformado por los recintos: El Recuerdo, Abanico, Piedad, Campo Alegre, Jobo, Mapancillo, Loma Colorada, Estero Lagarto, Amalia, Luz y Playones (Mancunidad "Abrás de Mantequilla", 2008). Recolección de muestras: Un total de 412 muestras de suero sanguíneo de equinos fueron tomadas entre el 5 de enero al 22 de diciembre del 2012, se tomaron muestras provenientes de 5 sectores del humedal "Abrás de Mantequilla" que son: La Piedad, La Luz,

Los Playones, Jobo y Mapancillo. (Figura 1) Se realizó encuestas sobre el estado de salud, antecedentes de vacunación y traslado de los equinos estudiados a otras zonas, así mismo la muestra fue extraída de la vena yugular y transportada al laboratorio en cajas térmicas refrigeradas con baterías de Gel congelado entre 4 a 8°C.

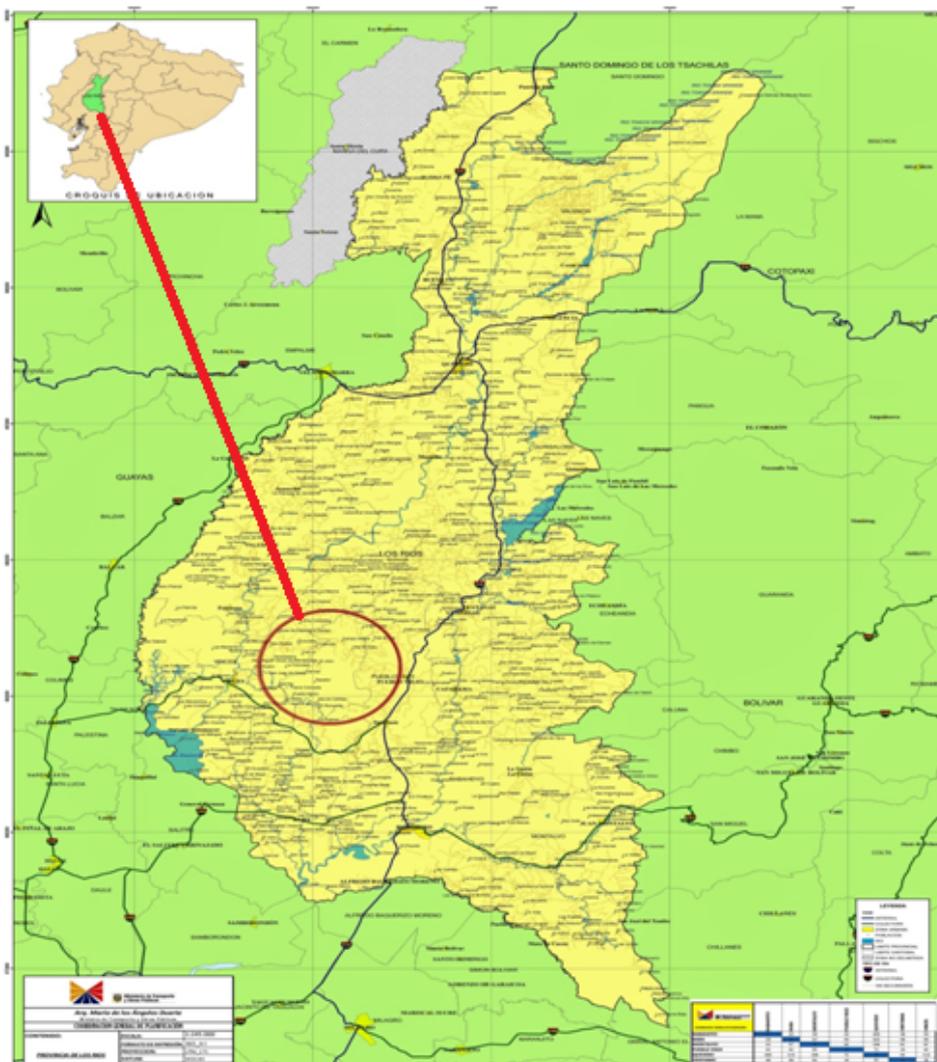


Figura 1 Mapa de la Provincia de Los Ríos, Zona "Humedal Abras de Mantequilla"  
Fuente: <http://www.zonu.com/fullsize/2011-11-10-14879/Mapa-de-Los-Ros-2010.html>

Para la prueba de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) de bloqueo, las muestras de suero sanguíneo fueron transportadas al laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez" (INH y MT "LIP") de Guayaquil, para la búsqueda de anticuerpos IgM, las mismas que se realizó de la siguiente forma: Se revistió la microplaca en U con 100 µl de IgManti-equina, luego se colocó 100 µl de Solución de Bloqueo (100 ml de PBS en 100 µl de Tween 20), después se

agregó 50 él de suero (muestra) y controles (positivos, negativos y blanco), a continuación se dispensó 50 él de antígenos de VESL del NAMRID, luego se agregó 50 él de conjugado (anticuerpos monoclonales anti-Flavivirus conjugados con peroxidasa de rábano), posteriormente se colocó 50 él de substrato más TMB, para finalmente adicionar 50 él de solución Stop ( cido Sulfúrico) (OMS/OPS/CDC. 2003).

Prueba de Neutralización por Reducción del Número de Placas (NTRP): Se realizó en el laboratorio de arbovirus del Instituto de Virología "J. M. Vanella" de la Universidad de Córdoba (Argentina). En esta prueba primero se agregó 50 él de células VERO, luego se realizó diluciones 1:10 de los sueros, usando como diluyente Medio MEM + antibiótico + suero fetal bovino, con el virus (cepa CbaAr4005). Después se dispensó 50 él de la mezcla virus-suero a cada pocillo, luego se Añadió 50 él de medio MEM, a continuación se incubó a 37o C en CO2 por 3 a 5 días, para posteriormente, teñir las células con Rojo Neutro, finalmente se observa la formación de placas. Las muestras positivas se valoraron a partir de diluciones seriadas en 1: 20 (Acuña M. 2001; BURGUEÑO A. 2013).

Metodología: El presente, es un estudio de tipo descriptivo, prospectivo y longitudinal, realizado en el Humedal de "Abr s de Mantequilla". La población total en las 5 zonas estudiada fue de 506 equinos, y la muestra fue de 412 animales.

## RESULTADOS

De los 412 muestras analizadas, 12 resultaron reactivas (2,9%), para anticuerpos IgM contra VESL por la técnica de ELISA de bloqueo en el laboratorio de Virología del (INH y MT "LIP") de Guayaquil y para confirmar este análisis, las muestras reactivas fueron analizadas en el laboratorio de arbovirus del Instituto de Virología "J. M. Vanella" de la Universidad de Córdoba (Argentina), en donde se confirmó 8 casos positivos contra VESL, lo que permitió determinar una seroprevalencia del virus en los equinos de las "Abr s de Mantequilla" con un resultado del 1,9%.

Asimismo, las muestras positivas corresponden a equinos de 3 zonas seleccionadas del humedal "Abr s de Mantequilla", presentándose en Los Playones 3 casos, en el Jobo 1 caso y en Mapancillo 4 casos.

## DISCUSIÓN

El VESL circula desde el sur de Canadá hasta Argentina, y se mantienen en la naturaleza en un ciclo enzoótico que involucra a mosquitos, principalmente del género *Culex*, y a aves de los  rdenes Passeriformes y Columbiformes, sin embargo, este virus es neurotrópico y puede provocar meningoencefalitis en el hombre (Beltrán F. 2015).

La actividad del vector (*Culex*) se da en zonas urbanas y silvestres, en ambientes domiciliarios (antropófila) y extra-domiciliarios (zoofílica). Respecto a la transmisión en su gran mayoría se dan en el amanecer y anochecer en el caso de mosquitos crepusculares, y durante la noche en los mosquitos nocturnos (Almirón W. 2007).

En Ecuador en la parroquia de Manglaralto en el año 1978, se detectó y aisló el VESL en mosquitos, durante un brote de casos en humanos (Gutiérrez, 1981), hasta la fecha no se han reportado estudios de seroprevalencia en equinos, de ciclo biológicos y de caracterización molecular (Gutiérrez, 1981). Por consiguiente, el presente estudio determinó por primera vez la presencia serológica del VESL en equinos de 3 zonas de las 5 zonas del humedal "Abrás de Mantequilla". La seroprevalencia obtenida (1,9%), difiere de los valores de seroprevalencia de equinos reportados en el Caribe Colombiano entre agosto 2006 a octubre 2007, con el 4,5% Álvarez J, (2012), en Argentina, determinaron por encima del 50% (Monath et al, 1985), en la provincia de Santa Fe se detectó el 12,2% (Tauro et al. 2012); Uruguay, en un estudio realizado en el 2007, determinó el 48,2% (Burgueño 2013). En Brasil, (2004 al 2009) en 5 estados Brasileños, se determinó el 12,3% (Silva, 2014), Rodríguez et al. (2010) entre marzo - setiembre de 2005, reportó el 50,9%; Pauvolid-Correa et al. (2010) determinó entre mayo 2006 a febrero del 2007 el 47%, Por otra parte, en el 2004 se reportó el primer aislamiento de VESL en un humano. (Rocco I, 2005), y en muestras obtenidas en marzo del 2009 se describió en el 2013, la identificación y el aislamiento del VESL en un equino que murió de encefalitis en Minas Gerais, de Brasil, siendo el primer caso reportado en el mundo, rompiendo de esta manera los paradigmas de esta arbovirosis, al saltar la barrera de especie, ya que, nunca se había reportado casos fatales en equinos (Rosa R, 2013).

Es trascendental destacar que los anticuerpos confirmados (IgM) indican infección reciente, lo que evidencia la permanente actividad del VESL en las áreas estudiadas. Las muestras tomadas para la ejecución de este trabajo provinieron de equinos que no presentaron signos y síntomas de enfermedad, sin antecedentes de vacunación, y que están continuamente presentes en los humedales estudiados. Asimismo, las zonas de las Abrás de Mantequilla son humedales RAMSAR de importancia en Ecuador y el mundo; además, es un sitio de gran impacto silvestre ya que se encuentra una gran variedad de ecosistemas privilegiados, donde llegan una gran diversidad de aves migratorias, lo que podría conllevar a un serio problema de salud animal y salud humana (Mancomunidad "Abrás de Mantequilla", 2008).

## CONCLUSIONES

El presente estudio determinó la seroprevalencia de anticuerpos IgM contra VESL en un 1,9% en equinos del humedal "Abr s de Mantequilla", lo que indica que el virus está circulando en las zonas estudiadas, el humedal presta las condiciones apropiadas para la transmisión de la enfermedad, lo que representa un riesgo de enfermedad para equinos y humanos.

Es importante mencionar que los datos obtenidos en este estudio servirán para fortalecer los sistemas de vigilancia epidemiológica de este arbovirus a nivel nacional.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña M., Castillo R., García M. 2001. Neutralización por reducción en placas como método específico para el Diagnóstico Serológico de Fiebre Amarilla. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública*; 18 (3).
- Almirón W., Crocco L. 2007. Mosquitos Urbanos Transmisores de Dengue y Encefalitis de San Luis. Universidad Nacional de Córdoba (Argentina). p 7-11.
-  lvarez J., González M., M ttar S. 2010. Actividad del virus del oeste del Nilo y otros flavivirus en cinco departamentos del Caribe colombiano. *Revista MVZ Córdoba/Colombia*, vol. 15, núm. 1, enero-abril, p. 2021-2022
- Beltrán, F.J., Diaz, L.A., Konigheim, B.S., Molina, J., Beaudoin, J.B., Contigiani, M.S., & Spinsanti, L.I. (2015). [Serological evidence of St. Louis encephalitis virus circulation in birds from Buenos Aires City, Argentina]. *Revista Argentina de microbiología*, 47 4, 312-6.
- Analía Burgueño, Lorena Spinsanti, Luis Adrián Díaz, et al., "Seroprevalence of St. Louis Encephalitis Virus and West Nile Virus (Flavivirus, Flaviviridae) in Horses, Uruguay," *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 582957, 5 pages, 2013. doi:10.1155/2013/582957
- CDC. 2016. Saint Louis Encephalitis. Symptoms and Treatment. Atlanta. USA.
- Díaz L. A. 2012. Ecoepidemiolog a del Virus de encefalitis de San Luís en Argentina. Tesis doctoral. Fac. de Ciencias exactas de la Universidad de Córdoba, Argentina.
- Delfraro A. 2002. Arbovirus en Uruguay: Dengue-Diagnóstico. Departamento de Epidemiología. 2012. Boletín Epidemiológico (SE24) Ministerio de Salud Pública.
- Gutiérrez E. 1981. Aislamiento de nuevos arbovirus en el Ecuador. Trabajo ganador del concurso "Junta Universitaria del Guayas" en el campo de ciencias biológicas. *Revista de la Universidad de Guayaquil*; 46: 165-183.
- Knipe D, Howley P. 2013. *Fields Virology*, 6th Edition Edited by Philadelphia, PA, USA. Lippincott Williams & Wilkins, 2013. p. 747-760
- McLean RG, Francy DB, Monath TP, Calisher CH, Trent DW. 1985. Isolation of St. Louis encephalitis virus from adult *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*. 22: p. 232-233.

- Monath TP, Sabattini MS, Pauli R, et al. 1985. Arbovirus investigations in Argentina, 1977–1980. IV. Serologic surveys and sentinel equine program: arthropod collections and virus isolations from argentine mosquitoes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*; 34: 945–955
- Mondini A, Cardeal IL, Lázaro E, et al. 2007. Saint Louis encephalitis virus, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*; 13 (1): 176–178.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS). 2017. Encefalitis de San Luis. Disponible en: <http://www.paho.org/hq/index.php?>
- Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS). Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC). 2004 Taller sobre Vigilancia y Diagnóstico del Virus del Nilo Occidental y otros arbovirus. Pergamino, ar. p. 50.
- Pauvolid-Corréa A, Tavares FN, Costa EV, et al. 2010. Serologic evidence of the recent circulation of Saint Louis encephalitis virus and high prevalence of equine encephalitis viruses in horses in the Nhecolândia sub-region in South Pantanal, Central-West Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*; 105 (6): 829–833.
- Rodrigues SG, Oliva OP, Araujo FA, et al. 2010. Epidemiology of Saint Louis encephalitis virus in the Brazilian Amazon region and in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil: elevated prevalence of antibodies in horses. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*; 1 (1): 81–86.
- Rocco I, et al. 2005. St. Louis encephalitis virus: first isolation from a human in São Paulo State, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* vol.47 no.5 São Paulo.
- Rosa, R., Costa, E. A., Marques, R. E., Oliveira, T. S., Furtini, R., Bomfim, M. R. Q., ... Santos, R. L. (2013). Isolation of Saint Louis Encephalitis Virus from a Horse with Neurological Disease in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(11), e2537. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002537>
- Silva J.R. A 2014. Saint Louis encephalitis and Rocio virus serosurvey in Brazilian horses. *Rev Soc Bras Med Trop*; 47 (4): 414-7.
- Spinsanti LI, Díaz LA, Glatstein N, et al. 2008. Human outbreak of St. Louis encephalitis detected in Argentina, 2005. *Journal of Clinical Virology*; 42 (1): 27–33.
- Seijo A, Morales A, Poustis G, et al. 2011. Outbreak of St. Louis encephalitis in the metropolitan Buenos Aires area. *Medicina B*; 71 (3): 211–217.
- Tauro L, Marino B, Diaz LA, et al. 2012. Serological detection of St. Louis encephalitis virus and West Nile virus in equines from Santa Fe, Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*; 107 (4): 553–556.